

# **Einfluss pharmakogenetischer Faktoren auf das Auftreten unerwünschter Arzneimittelereignisse bei Patienten mit Diabetes mellitus**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Natalia Tschetwertak  
geboren am 11. 04. 1972 in Kirowograd

Gutachter 1

Gutachter 2

Gutachter 3

Tag der öffentlichen Verteidigung

# Inhaltverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	6
<b>Zusammenfassung</b>	7
<b>1. Einleitung</b>	9
1.1. UAE-Problematik bei Patienten mit Diabetes mellitus	9
1.2. Untersuchungen zum Einfluss pharmakogenetischer Faktoren auf das Auftreten von UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus	15
<b>2. Zielstellung</b>	16
<b>3. Methodik</b>	16
3.1. Datenerhebung	16
3.2. Genetische Bestimmungen	18
3.2.1. Genotypisierungsmethoden	18
3.2.2. CYP2C8-Genotypisierung und Klassifikation	19
3.2.3. CYP2C9-Genotypisierung und Klassifikation	19
3.2.4. CYP2C19-Genotypisierung und Klassifikation	19
3.2.5. CYP2D6-Genotypisierung und Klassifikation	20
3.2.6. NAT2-Genotypisierung und Klassifikation	20
<b>4. Ergebnisse</b>	21
4.1. Patientenpopulation	21
4.2. Genotypisierungsbefunde	23
4.2.1. CYP2C8-Genotypisierungsbefunde der gesamten Patientengruppe	23
4.2.1.1. CYP2C8-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Vergleich zu den CYP2C8-Genotypisierungsbefunden der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2	24

4.2.2.	CYP2C9-Genotypisierungsbefunde der gesamten Patientengruppe	25
4.2.2.1.	CYP2C9-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Vergleich zu den CYP2C9-Genotypisierungsbefunden der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2	26
4.2.3.	CYP2C19-Genotypisierungsbefunde der gesamten Patientengruppe	27
4.2.3.1.	CYP2C19-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Vergleich zu den CYP2C19-Genotypisierungsbefunden der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2	28
4.2.4.	CYP2D6-Genotypisierungsbefunde der gesamten Patientengruppe	28
4.2.4.1.	CYP2D6-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Vergleich zu den CYP2D6-Genotypisierungsbefunden der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2	30
4.2.5.	NAT2-Genotypisierungsbefunde der gesamten Patientengruppe	31
4.2.5.1.	NAT2-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Vergleich zu den NAT2-Genotypisierungsbefunden der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2	33
4.3.	UAE bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus	35
4.3.1.	UAE-Häufigkeit und Charakteristika der Patienten mit UAE	35
4.3.2.	UAE-Spektrum	36
4.3.3.	UAE-assoziierte Arzneimittel	37
4.3.4.	UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme und Genotypisierungsbefunde der erfassten UAE-Patienten mit Diabetes mellitus	39
4.3.4.1.	UAE durch CYP2C8- und CYP2C9-Substrate und Genotypisierungsbefunde der Patienten durch CYP2C8-Substrate	40
4.3.4.2.	UAE durch CYP2C9-Substrate und Genotypisierungsbefunde der Patienten durch CYP2C9-Substrate	43
4.3.4.3.	UAE durch CYP2C19-Substrate und Genotypisierungsbefunde der Patienten durch CYP2C9-Substrate	45
4.3.4.4.	UAE durch CYP2D6-Substrate und Genotypisierungsbefunde der Patienten durch CYP2D6-Substrate	46
4.3.4.5.	UAE durch NAT2-Substrate und Genotypisierungsbefunde der Patienten durch NAT2-Substrate	48
4.3.5.	Anteil der auf genetisch bedingte Metabolisierungsschwäche zurückgeführten UAE	49

<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>51</b>
5.1.	UAE- und Arzneimittelinteraktionenproblematik	51
5.2.	Genotypisierungsbefunde der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus hinsichtlich der untersuchten Enzyme	53
5.3.	Patientenpopulation, UAE-Spektrum und UAE-assoziierte Arzneimittel	55
5.4.	UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme des CYP-Systems und NAT2	57
5.5.	Rolle und Notwendigkeit der pharmakogenetischen Diagnostik vor Beginn einer medikamentösen Therapie	62
5.6.	Andere (nichtgenetische) Einflussfaktoren auf die individuellen Unterschiede in der Arzneimittelwirkung	63
<b>6.</b>	<b>Schlussfolgerungen</b>	<b>64</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>66</b>
<b>8.</b>	<b>Anhang</b>	<b>76</b>
8.1.	Erfassungsbogen der Patienten mit Diabetes mellitus	76
8.2.	Kausalitätsbeurteilung nach Bégaud	77
8.3.	Auswertungstabelle für die ermittelten NAT2-Genotypen	79
8.4.	Lebenslauf	80
8.5.	Danksagung	81
8.6.	Ehrenwörtliche Erklärung	82

## ***Abkürzungsverzeichnis***

ACE-Hemmer	Angiotensin-Converting-Enzyme-Hemmer
ALAT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
ASS	Acetylsalicylsäure
ATC	Anatomical Therapeutic Chemical
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BMI	Body Mass Index
CYP	Cytochrom P450
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EM	Extensive Metabolizer, schneller Metabolisierer
GGT	Gamma-Glytaryl-Transferase
HbA1c	Glykosyliertes Hämoglobin A1c
IM	Intermediate Metabolizer, mittelschneller Metabolisierer
i.v.	intravenös
NAT	N-Acetyltransferase
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
OAD	Orale Antidiabetika
p	Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanzniveau)
PCR	Polymerase Chain Reaction, Polymerase-Kettenreaktion
PM	Poor Metabolizer, langsamer Metabolisierer
SF	sex factor
SOP	Standard Operation Procedure
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (Statistik-Software)
UAE	Unerwünschte(s) Arzneimittelereignis(se)
UAW	Unerwünschte Arzneimittelwirkung(en)
UM	Ultrapid Metabolizer, ultraschneller Metabolisierer
vs.	versus
WHO	World Health Organisation

## ***Zusammenfassung***

Die interindividuelle Arzneimittelwirkung unterliegt einer erheblichen Variabilität. Die Ursachen hierfür sind vielfältig. Unter anderem können genetische Polymorphismen arzneimittelmetabolisierender Enzyme und Arzneimittelinteraktionen dafür verantwortlich sein. Die dem genetischen Polymorphismus zugrunde liegenden Genmutationen führen zu einer veränderten, meist reduzierten Enzymaktivität oder zum vollständigen Funktionsverlust des Enzyms. Die daraus resultierenden hohen Plasmaspiegel der betreffenden Medikamente können zu unerwünschten Arzneimittelwirkungen bzw. Arzneimittelereignissen (UAE) oder Toxizitäten führen. Das Auftreten von UAE stellt ein großes medizinisches und finanzielles Problem dar.

Patienten mit Diabetes mellitus gehören aufgrund der hohen Anzahl von diabetesbedingten Begleit- und ggf. Folgeerkrankungen und einer Vielzahl gleichzeitig eingenommener Medikamente zur Risikogruppe für UAE. Über die Häufigkeit der wichtigen genetischen Enzympolymorphismen CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 sowie NAT2 bei Patienten mit verschiedenen Diabetestypen und über ihre Rolle beim Auftreten von UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus liegen nur einzelne Daten vor. In der vorliegenden Arbeit soll der Einfluss pharmakogenetischer Faktoren auf das Auftreten von UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus untersucht werden.

In diesem Zusammenhang wurden 398 Patienten mit Diabetes mellitus in den Kliniken für Innere Medizin des Sophien- und Hufeland Klinikums Weimar erfasst, ihre Blutproben hinsichtlich der arzneimittelmetabolisierenden Enzyme CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 und NAT2 mittels Restriktionsfragmentanalyse nach Polymerase-Kettenreaktion genotypisiert und alle zur stationären Aufnahme dieser Patienten geführten UAE analysiert. Für die pharmakogenetischen Untersuchungen lag die Zustimmung der Ethik-Kommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena an der Medizinischen Fakultät vor. Diese Bestimmungen sind in eine vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte geförderte multizentrische Studie zur Erfassung und Bewertung von UAE, die zur Krankenhausaufnahme führen (Förder-Nr. Z1201-68502-201) integriert.

3,8 % der erfassten Patienten hatten Diabetes mellitus Typ 1 und 96,2 % der Patienten Diabetes mellitus Typ 2. Die von uns untersuchten Patienten mit Diabetes mellitus wiesen vergleichbare Allelfrequenzen für die untersuchten Mutationsallele des CYP-Systems und NAT2 in Relation zu populationsbezogenen Genotypisierungen von Patienten ohne Diabetes mellitus auf.

Die Genotypisierungsbefunde hinsichtlich CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 und NAT2 unterschieden sich nicht signifikant in ihrer Häufigkeitsverteilung zwischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2.

Hinsichtlich der UAE der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus fanden wir eine höhere Inzidenzrate im Vergleich zu den Untersuchungsergebnissen von Maier (2004) (14,8 % vs. 12,1 %). Patienten, die UAE erlitten haben, wiesen keine signifikanten Unterschiede in Alter, Geschlechtsverteilung, Diabetesdauer, Body Mass Index, HbA1c, Kreatininclearance und Leberwerten im Vergleich zu den Patienten auf, die keine UAE erlitten haben. Die häufigsten diagnostizierten UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus stellten die schweren Hypoglykämien dar (50,8 %), die durch orale Antidiabetika (OAD),  $\beta$ -Blocker, ACE-Hemmer und Insulin ausgelöst wurden, gefolgt von Blutungen unter Antikoagulantia (20,3 %), Störungen des Verdauungstraktes unter Thrombozytenaggregationshemmern und nichtsteroidalen Antirheumatika (15,3 %), Bradykardien unter  $\beta$ -Blocker (5,1 %), Hypokaliämie unter Diuretika (3,4 %), Leberfunktionsstörung unter OAD (3,4 %) und Glykosidintoxikation unter Digitalis-Präparaten (1,7 %).

84,7 % der UAE waren auf Medikamente zurückzuführen, die zu einem überwiegenden Teil durch die untersuchten Enzyme metabolisiert werden. Bei 46,0 % der Patienten, die UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme erlitten haben, wurde eine genetisch bedingte Metabolisierungsschwäche anhand der Genotypisierungsbefunde festgestellt. Dies betraf zu 100 % die Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2. Die Genotypisierungsbefunde der Patienten mit und ohne UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme unterschieden sich nicht signifikant. 38,9 % aller erfassten UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus konnten auf einen genetischen Enzymdefekt zurückgeführt werden. Dagegen wurden von Buchardt (2004) lediglich 6 % UAE berichtet. Es handelte sich um Patienten, die nicht nach der Diagnose Diabetes mellitus stratifiziert worden waren. Um das Risiko der Defektallelträger unter den Patienten mit Diabetes mellitus für UAE bei verschiedenen polymorph metabolisierten Medikamenten zu ermitteln, sind weitere Studien mit großen Patientenzahlen notwendig.

Durch Berücksichtigung der pharmakogenetischen Eigenschaften soll die Arzneitherapie wirksamer und zugleich sicherer werden. Die prätherapeutische Genotypisierung könnte somit ein erster Schritt zur individuell gestalteten medikamentösen Therapie und zum Vermeiden von UAE sein. Dem Ziel einer individualisierten Therapie dient darüber hinaus auch die Berücksichtigung zahlreicher weiterer beim Patienten vorliegender Faktoren.



## **1. Einleitung**

### **1.1. UAE-Problematik bei Patienten mit Diabetes mellitus**

Die unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) tragen erheblich zu Morbidität, Mortalität und Kosten in unserem Gesundheitswesen bei (Lazarou et al. 1998). Bei etwa 5 % der Arzneimittelanwendungen ist mit UAW zu rechnen (Müller-Oerlinghausen et al. 1999). Laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) sind UAW „schädliche und unbeabsichtigte Reaktionen auf ein Arzneimittel, das in Dosierungen, die beim Menschen zur Prophylaxe, Diagnose, Therapie oder zur Beeinflussung physiologischer Funktionen üblich sind, verabreicht werden“ (World Health Organisation 1972). Diese Definition der WHO geht von der sachgerechten Anwendung eines Arzneimittels aus. Einige Studien zeigten jedoch, dass die vielen Komplikationen bei der Arzneimittelanwendung auf ärztliche Therapiefehler (z. B. Überdosierung), Arzneimittelwechselwirkungen oder falsche Applikation zurückzuführen sind (Leporie et al. 1999, Hippus et al. 2001, Peyriere et al. 2003). Die unerwünschten Arzneimittelereignisse (UAE) schließen neben den UAW auch Medikamentenüberdosierungen, Medikamenteninteraktionen, Fehlgebrauch und Noncompliance mit ein und erweitern so die Definition der WHO (Edwards and Aronson 2000). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit werden UAE im Sinne von UAW und Arzneimittelinteraktionen erfasst und analysiert. Arzneimittelüberdosierungen, Fehlgebrauch sowie Noncompliance der Patienten werden nicht betrachtet.

Das Auftreten von UAE stellt ein großes Problem dar. Ca. 3 bis 6 % aller Krankenhausaufnahmen erfolgen aufgrund von UAE (Dormann et al. 2003). Erste Auswertungen einer vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte geförderten pharmakoepidemiologischen Studie ergaben, dass 2,4 % aller internistischen Krankenhausaufnahmen auf UAE zurückzuführen waren. Bei 2,5 % dieser UAE-Fälle musste ein bleibender Defekt und bei 1,7 % ein tödlicher Ausgang konstatiert werden (Schneeweiss et al. 2002).

UAE stellen nicht nur ein medizinisches, sondern auch ein finanzielles Problem dar. Für Deutschland wurden die direkten Behandlungskosten von UAE allein auf internistischen Stationen auf 350 bis 400 Mio. € jährlich geschätzt (Schneeweiss et al. 2002). Ungefähr 40 % der UAE, die zu einer stationären Aufnahme führen, werden als vermeidbar eingestuft (Dormann et al. 2003, Dormann et al. 2004). Hier eröffnet sich die Möglichkeit der Senkung der Behandlungskosten mit einer gleichzeitigen Verbesserung der Patientenbetreuung.

Bis zu 30 % aller UAW sind Arzneimittelinteraktionen zuzuschreiben, wobei sie rund die Hälfte der mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen in Verbindung gebrachten Kosten ausmachen (Bates et al. 1997). So wird die Reduktion von Arzneimittelinteraktionen und der damit verbundenen arzneimittelbezogenen Probleme zu einem wichtigen Ziel in der Versorgung von Patienten. Bei der Betrachtung von UAE in der Arzneimitteltherapie müssen daher UAW als Effekt eines einzelnen Arzneistoffs, aber auch als Arzneimittelinteraktionen zwischen unterschiedlichen, gleichzeitig applizierten Pharmaka berücksichtigt werden (WHO Technical Report No 498 1972).

Als Risikofaktoren für das Auftreten von UAE wurden das Alter, weibliches Geschlecht, Polymorbidität, Polymedikation, Leber- und Nierenfunktion diskutiert (Lazarou et al. 1998, Fattinger et al. 2000, Maier 2004). Da viele internistische Patienten diese Risikofaktoren aufweisen, ist bei ihnen mit einem höheren Risiko von UAE auch aufgrund von Arzneimittelinteraktionen zu rechnen (Monane et al. 1997, Herrlinger et al. 2001).

Eine Erkrankung, die mit einem großen Teil der beschriebenen Risikofaktoren für das Auftreten von UAE einhergeht, ist der Diabetes mellitus, der neben den kardiovaskulären und den Krebserkrankungen einen vorderen Platz in der Statistik einnimmt. Die weltweiten Zahlen steigen rasch an und die Vorhersageschätzungen werden immer wieder nach oben revidiert. Nach Angaben der WHO und der Internationalen Diabetes Föderation (IDF) betrug die Gesamtzahl der Patienten mit Diabetes mellitus im Jahr 2006 weltweit mehr als 246 Millionen (6,0 % der Weltbevölkerung). Es wird vorausgesagt, dass diese Zahl in den nächsten 20 Jahren auf 380 Millionen ansteigen wird (IDF Diabetes Atlas 2006).

Internistische Patienten waren im Rahmen einiger UAE-Untersuchungen überproportional häufig Patienten mit Diabetes mellitus (Malhotra et al. 2001, Zitzmann 2002). Sie gehören aufgrund der hohen Anzahl von diabetesbedingten Begleit- und ggf. Folgeerkrankungen und einer Vielzahl gleichzeitig eingenommener Medikamente zur Risikogruppe, die häufiger UAE erleiden als Patienten ohne Diabetes mellitus (Schweinitz 2003). 45 % der Patienten mit UAE, die in die Kliniken für Innere Medizin in Weimar aufgenommen wurden, waren Patienten mit Diabetes mellitus (Zitzmann 2002). Eine besondere Bedeutung im Zusammenhang mit dem Risiko einer UAW hat die diabetische Nephropathie mit eingeschränkter Nierenfunktion (Maier 2004). Bei Patienten mit Diabetes mellitus und eingeschränkter Nierenfunktion wurden signifikant häufiger UAE als bei Patienten mit Diabetes mellitus und normaler Nierenfunktion festgestellt (Maier 2004).

Diese Daten zeigen die Notwendigkeit der UAE-Ursachenanalyse bei Patienten mit Diabetes mellitus als Risikogruppe für das Auftreten von UAE.

Außer den o. g. Risikofaktoren für das Auftreten von UAE (Alter, Geschlecht, Polymorbidität, Polymedikation, Leber- und Nierenfunktion) kann das therapeutische Ansprechen eines Patienten auf eine medikamentöse Therapie auch durch genetisch bedingte Aktivitätsunterschiede der arzneimittelmetabolisierenden Enzyme, Enzyminduktion und Enzyminhibition sowie durch verschiedene Arzneimittelinteraktionen beeinflusst werden (Normann et al. 1998, Feuring et al. 2000, Paneitz et al. 2000). Ein Arzneimittel kann trotz gleicher Dosierung große Unterschiede in der Wirkung und dem Auftreten von UAW aufweisen. Eine Ursache dieser interindividuellen Unterschiede kann in genetischen Polymorphismen arzneimittelmetabolisierender Enzyme begründet sein. Der genetische Polymorphismus manifestiert sich als ein monogen vererbtes Merkmal, das in der Bevölkerung aufgrund von Mutationen im entsprechenden Gen in mindestens zwei Phänotypen, jeweils mit einer Frequenz von mindestens 1 % vorliegt. Bei einer niedrigen Frequenz spricht man von einer seltenen genetischen Variante. Genetische Polymorphismen arzneimittelmetabolisierender Enzyme können durch die Anwendung eines Medikamentes, das durch das polymorphe Enzym metabolisiert wird, klinisch manifest werden. Weiterhin können Zielstrukturen für Pharmaka (Rezeptoren oder Ionenkanäle) genetisch bedingt unterschiedlich ausgeprägt sein, so dass Pharmaka individuell unterschiedlich wirken (Schwab et al. 2002, Haussmann 2006).

Verantwortlich für die Biotransformation körpereigener und fremder Substanzen und damit auch für den Arzneimittelmetabolismus ist unter anderem das Cytochrom P450 (CYP)-System mit seinen unterschiedlichen Isoenzymen, bei denen es sich um Hämoproteine handelt, die ubiquitär in Bakterien, Pflanzen und Tieren vorkommen und in der Membran des endoplasmatischen Retikulums der Zelle verankert sind. Gendefekte abbauender CYP-Enzyme, die zum teilweisen oder vollständigen Funktionsverlust des Enzyms führen, bedingen bei Menschen zu hohe Plasmaspiegel der betreffenden Medikamente, die zu Nebenwirkungen oder Toxizitäten führen können (Schwab et al. 2002, Haussmann 2006).

Die Cytochrom-P450-Enzyme *CYP2C8*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* sowie *NAT 2* gehören zu den wichtigsten polymorphen Enzymen des Arzneimittelmetabolismus. Viele häufig verordnete Arzneimittel, die auch den Glukosestoffwechsel beeinflussen können, werden durch diese Enzyme metabolisiert und können für Patienten mit Diabetes mellitus klinisch relevant sein.

Das Enzym *CYP2C8* gehört neben drei weiteren Isoenzymen (*CYP2C9*, *2C18* und *2C19*) zur *CYP2C*-Familie (Goldstein und de Morais 1994, Nelson 1999, Rettie et al. 2000, Goldstein 2001). Der *CYP2C8\*3* Polymorphismus stellt den häufigsten *CYP2C8*-Polymorphismus bei Kaukasiern dar (Allelfrequenz 13 %). Die Häufigkeit der homozygoten genetischen Variante *CYP2C8\*3/\*3*, die mit einer verringerten Enzymaktivität assoziiert ist (Dai et al. 2001), beträgt 1,7 % in der kaukasischen Bevölkerung (Kirchheiner 2003). *CYP2C8* ist unter anderem am Metabolismus von oralen Antidiabetika (Pioglitazon, Rosiglitazon, Repaglinide, Nateglinid, Tolbutamid, Glimepirid sowie Glibenclamid) beteiligt (Kirchheiner 2003, Niemi et al. 2003). Glitazone (Rosiglitazon und Pioglitazon), Tolbutamid und Nateglinid wurden als *CYP2C8*-Hemmer identifiziert. Somit kann *CYP2C8* für die mit OAD behandelten Patienten mit Diabetes mellitus klinisch relevant sein.

Das Cytochrom *CYP2C9* gehört zu den wichtigsten arzneimittelmetabolisierenden Enzymen im menschlichen Organismus und macht mit ca. 30 % den hauptsächlichen Anteil aller *CYP2C*-Isoenzyme in der menschlichen Leber aus (Goldstein und de Morais 1994, Goldstein 2001). Relevant für *CYP2C9* sind zwei zum Aminosäurenaustausch führende Mutationen *CYP2C9\*2* und *CYP2C9\*3*, die mit einem erheblichen Funktionsverlust einhergehen. Die Enzymaktivität beträgt bei homozygoten Individuen für das *CYP2C9\*3-Allel* je nach Substrat 10 - 30 % im Vergleich zu Wildtypträgern (Sullivan-Klose et al. 1996, Aithal et al. 1999, Kirchheiner et al. 2002a). *CYP2C9\*3/\*3*-Träger weisen z. B. eine 5 - 10fach reduzierte Clearance der meisten *CYP2C9*-Substrate auf (Kirchheiner et al. 2002, Sullivan-Klose et al. 1996), so dass es nach der Einnahme dieser *CYP2C9*-Substrate zu einer Zunahme der Substratwirkungsdauer bzw. -stärke kommen kann. Für das durch *CYP2C9\*2* kodierte Enzym konnte in einigen Studien eine Verminderung der katalytischen Aktivität von geringerem Ausmaß als für *CYP2C9\*3* nachgewiesen werden (Kirchheiner et al. 2002a). 82 % der kaukasischen Bevölkerung weisen den Wildtyp *CYP2C9\*1* auf, wohingegen 11 % der Kaukasier die *CYP2C9\*2*-Allelvariante und nur 7 % die *CYP2C9\*3*-Allelvariante aufweisen (Takahashi et al. 2000). Etwa 1 - 3 % der deutschen Bevölkerung sind für die beiden mutierten Allele *CYP2C9\*2* bzw. *CYP2C9\*3* homozygote Träger (Rettie et al. 2000). Darüber hinaus hatten aber auch heterozygote Merkmalsträger (*CYP2C9\*1/\*3* bzw. *CYP2C9\*1/\*2*), die in der europäischen Bevölkerung mit einer Häufigkeit von ca. 35 % vorkommen, ein erhöhtes Risiko für Nebenwirkungen (Kirchheiner et al. 2002a).

Nach Erkenntnissen, dass Substanzen mit einer engen therapeutischen Breite über das CYP2C9 verstoffwechselt werden, gewinnt das Enzym immer mehr an Bedeutung. CYP2C9 ist an der Metabolisierung von OAD (Glibenclamid, Glimepirid, Tolbutamid, Glipizid, Nateglinid sowie Repaglinid) beteiligt, was für die mit OAD behandelten Patienten mit Diabetes mellitus klinisch relevant sein kann. In einer Studie zu CYP2C9-Polymorphismen wurde der deutliche Einfluss des Genotyps *CYP2C9*\*3/\*3 auf die Clearance von CYP2C9-Substraten gezeigt (Kirchheiner 2003). Kirchheiner (2003) stellte fest, dass die Unterschiede zwischen den mittleren Clearance-Werten von Trägern des Genotyps *CYP2C9*\*1/\*1 zu denen des Genotyps *CYP2C9*\*3/\*3 das 4 - 5fache für Glibenclamid und das 2 - 3fache bei Nateglinid betragen, was zu Hypoglykämien führen kann. Außerdem wird in mehreren Studien ein Zusammenhang zwischen den durch CYP2C9-Substrat Phenprocoumon ausgelösten Blutungen und dem genetisch determinierten Enzymdefekt diskutiert (Hummers-Pradier et al. 2003, Schalekamp et al. 2004).

Wie das *CYP2C9* gehört das *CYP2C19* zu der Cytochrom-P450C-Subfamilie. Von den vier Isoenzymen (CYP2C8, CYP2C18, CYP2C9 und NAT2) weist es die geringste Konzentration in der Leber auf und besitzt nur einen Anteil von 1 % an der Gesamtmenge der CYP2C-Enzyme (Goldstein und de Morais 1994, Goldstein 2001). Ca. 2 - 5 % der deutschen Bevölkerung sind defiziente Metabolisierer für *CYP2C19* und zeigen eine fehlende Metabolisierungskapazität (Rettie et al. 2000). Aufgrund des seltenen Vorkommens der meisten genetischen Varianten besitzt in der kaukasischen Bevölkerung nur das *CYP2C19*\*2-Allel klinische Relevanz. Es führt zur Bildung eines inaktiven Proteins und ist für ca. 80 % der langsamen Metabolisierer bei Kaukasiern verantwortlich (de Morais et al. 1994, Griese et al. 1999, Xie et al. 1999). Verschiedene  $\beta$ -Blocker, die ein Interaktionspotenzial bei der Auslösung von Hypoglykämien bei Patienten mit Diabetes mellitus haben (Wuttke und Rau 2002), wurden unter anderem als CYP2C19-Substrate identifiziert (Desta et al. 2002). Somit könnte CYP2C19 für Patienten mit Diabetes mellitus klinisch relevant sein.

*CYP2D6* ist eines der wichtigsten arzneimittelmetabolisierenden Enzyme. Obwohl es nur einen geringen Prozentsatz (ca. 3 %) aller in der Leber vorhandenen CYP450-Enzyme ausmacht (Zanger 2004), katalysiert es 20 - 25 % der Metabolisierungen von klinisch gebräuchlichen Arzneimitteln (Ingelman-Sundberg 2005). Abhängig von der jeweiligen Mutation kodieren die CYP2D6-Allele für Enzyme mit gesteigerter (ultraschnelle Metabolisierer, UM), normaler (schnelle Metabolisierer, EM), erniedrigter (intermediäre Metabolisierer, IM) oder fehlender Aktivität (langsame Metabolisierer, PM) (Daly et al. 1996, Ingelman-Sundberg 1999, Daly 2003).

In einer kaukasischen Population beträgt der Anteil von EM ca. 50 %, von IM ca. 40 %, von PM 5 - 10 % und von UM 1 - 2 %. PM sind Träger zweier Defektallele, weisen keine Enzymaktivität auf und sind nicht in der Lage, CYP2D6-Substrate effizient zu metabolisieren (Sachse et al. 1997, Griese et al. 1998, Bertilsson et al. 2002). IM sind genotypisch meistens heterozygot und haben ebenfalls eine stark reduzierte katalytische Aktivität des Enzyms (Rau et al. 2002). Diese Patienten sind dem Risiko der Entwicklung von UAW ausgesetzt, sobald sie ein CYP2D6-spezifisches Medikament einnehmen. Neben dem vollständigen Fehlen des CYP2D6-Gens (CYP2D6\*5) sind eine Reihe weiterer defizienter Allele bekannt (CYP2D6\*3, CYP2D6\*4 und CYP2D6\*6). Nahezu 100 % der langsamen CYP2D6-Metabolisierer in der kaukasischen Bevölkerung können anhand dieser genetischen Polymorphismen identifiziert werden (Zanger et al. 2004). Bei Kaukasiern beträgt die Allelhäufigkeit ca. 20 % für das CYP2D6\*4, das mehr als 75 % der PM-Allele in dieser Bevölkerungsgruppe ausmacht, 2 % für CYP2D6\*3 und 1 % für CYP2D6\*6 (Sachse et al. 1997, Ingelman-Sundberg et al. 1999). Das Enzym *CYP2D6* ist am Stoffwechsel von knapp einem Viertel aller Arzneimittel beteiligt, unter anderem auch an der Metabolisierung von  $\beta$ -Blockern, welche Hypoglykämien bei Patienten mit Diabetes mellitus auslösen können (Rau et al. 2002, Wuttke und Rau 2002). CYP2D6 ist damit für diese Patientengruppe klinisch relevant.

*NAT2* ist ein Phase-II-Enzym der Biotransformation (Grant et al. 1991, Grant et al. 1997, Grant et al. 2000). Einige Allele von *NAT2* führen zu einer herabgesetzten Enzymaktivität (Hein et al. 2003). Die Allelvarianten unterscheiden sich vom Wildtyp-Allel durch eine oder mehrere Punktmutationen, wodurch eine genetische Unterscheidung zwischen langsamen und schnellen Acetylierern möglich wird. Die Verminderung der Enzymaktivität von *NAT2* und somit die Ausprägung des langsamen Acetylierertyps ist das Ergebnis bestimmter Punktmutationen im *NAT2*-Gen und der daraus resultierenden Bildung eines instabilen oder weniger aktiven Enzyms (Blum et al. 1991, Hein et al. 1994). Schnelle Acetylierer sind homozygot oder heterozygot für das dominante *NAT2*\*4 Wildtyp-Allel, wohingegen die langsamen Acetylierer unterschiedlichste Kombinationen der vielen verschiedenen rezessiven Allele tragen (Aynacioglu et al. 2001). Mehr als die Hälfte der kaukasischen Bevölkerung weist eine reduzierte Aktivität der *NAT2* auf. Die häufigsten *NAT2*-Allele bei Kaukasiern sind *NAT2*\*5B (41 %), *NAT2*\*6A (28 %) und *NAT2*\*7B, die in mindestens 95 % der Fälle für einen langsamen Acetyliererstatus verantwortlich sind. Das Wildtyp-Allel *NAT2*\*4, das ein Schnell-Acetylierer-Allel ist, kommt bei 23 % dieser Population vor. Alle anderen Allele sind bei Kaukasiern seltener (Cascorbi et al. 1999).

NAT2 ist für den Abbau vieler Medikamente (primäre Amine oder Hydrazine und Sulfonamide) und Chemikalien zuständig (Weber und Hein 1985, Weber 1987). Ursprünglich wurden Sulfonamide als orale Antidiabetika verwendet. Nachfolger in dieser Richtung sind die Sulfonylharnstoffe. Für die Patienten mit Diabetes mellitus können Sulfonamide klinisch relevant sein, weil sie hauptsächlich in Kombination mit Diaminopyrimidinen (z. B. als Cotrimoxazol) oft gegen unkomplizierten Harnwegsinfektionen bei dieser Patientengruppe eingesetzt werden, was bei langsamen Acetylierern zu UAW führen kann (Hoc 1997).

## ***1.2. Untersuchungen zum Einfluss pharmakogenetischer Faktoren auf das Auftreten von UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus***

Schweinitz (2003) und Maier (2004) haben UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus, die zur stationären Aufnahme dieser Patienten geführt haben, im Rahmen einer multizentrischen Studie untersucht (Schweinitz 2003, Maier 2004). Aber bisher liegen nur vereinzelte Studien vor, die den Einfluss pharmakogenetischer Faktoren auf das Auftreten von UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus untersucht und analysiert haben. Einige Autoren haben z. B. eine Assoziation zwischen langsamen Metabolisierern von CYP2C9 und schweren Hypoglykämien unter der Therapie mit Sulfonylharnstoffen bei Patienten mit Diabetes mellitus gefunden (Holstein et al. 2005, Kirchheiner und Brockmöller 2005). Über die Häufigkeit der wichtigen genetischen Enzypolymorphismen CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 und NAT2 bei Patienten mit Diabetes mellitus liegen nur vereinzelte Daten vor.

Hinsichtlich der Arzneimittelinteraktionen haben einige Autoren festgestellt, dass die Risikobeurteilung einer Arzneimitteltherapie bei älteren Patienten aufgrund höherer Inzidenz von UAW im Allgemeinen und von Arzneimittelinteraktionen im Speziellen große Bedeutung hat (Björkmann et al. 2002).

Die vorliegende Arbeit soll eine Einschätzung des Einflusses wichtiger genetischer Enzypolymorphismen CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 sowie NAT2 auf das Auftreten von UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus liefern.

## **2. Zielstellung**

Ausgehend von der Vermutung, dass Patienten mit Diabetes mellitus aufgrund eines höheren Risikos ein UAE zu erleiden, eine höhere Prävalenz der langsamen Metabolisierer im Vergleich zur gesunden kaukasischen Bevölkerung haben könnten, sollte die Häufigkeit wichtiger genetischer Enzym polymorphismen *CYP2C8*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* und *NAT 2* bei stationär aufgenommenen Patienten mit Diabetes mellitus bestimmt werden. Die Genotypisierungsbefunde der erfassten Patienten mit verschiedenen Diabetestypen sollten verglichen werden. Der Einfluss pharmakogenetischer Faktoren und Arzneimittelinteraktionen auf das Auftreten von UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme bei Patienten mit Diabetes mellitus sollte untersucht werden. Die in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse sollen aufzeigen, inwieweit eine Genotypisierung der Patienten mit Diabetes mellitus vor Beginn einer Pharmakotherapie zur Identifizierung von Risikopatienten und zur Vermeidung von UAE beitragen kann.

## **3. Methodik**

### **3.1. Datenerhebung**

Im Untersuchungszeitraum Februar 2003 bis Oktober 2003 wurden 398 Patienten mit Diabetes mellitus in den Kliniken für Innere Medizin des Sophien- und Hufeland Klinikums Weimar erfasst. Prinzipiell wurde jeder der 398 Patienten nach einer entsprechenden Aufklärung um sein freiwilliges Einverständnis für die Datenerhebung im Rahmen dieser Dissertation und für die Durchführung der pharmakogenetischen Untersuchungen gebeten. Von jedem Patienten wurde neben anamnestischen Basisdaten (Geburtsdatum, Geschlecht, Body Mass Index (BMI), Diabetestyp, Diabetesdauer), klinischen und laborchemischen Befunden bei der Klinikaufnahme (HbA1c, Kreatinin im Serum, ASAT, ALAT, AP und GGT) eine detaillierte Arzneimittelanamnese (ärztlich verordnete Medikamente incl. Selbstmedikation) mittels Patienteninterview sowie Akteneinsicht erhoben (siehe Erfassungsbogen im Anhang).

Zur Beurteilung der Nierenfunktion bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus erfolgte die Berechnung der Kreatininclearance nach der Cockcroft-Gault-Formel:

$$\frac{[140 - \text{Alter (Jahre)}] \times \text{Körpergewicht (kg)} \times \text{SF (sex factor)}}{0,82 \times \text{Serumkreatinin } (\mu\text{mol/l})} = \text{Kreatininclearance (ml/min)}$$

sex factor für Frauen = 0,85 und sex factor für Männer = 1 (Cockcroft und Gault 1976).



Die Einteilung der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus hinsichtlich der Nierenfunktion erfolgte nach den Praxis-Leitlinien der Deutschen Diabetes Gesellschaft (2002) in Patienten mit einer normalen Nierenfunktion (Kreatininclearance  $\geq 90$  ml/min) und in Patienten mit einer eingeschränkten Nierenfunktion (Kreatininclearance  $< 90$  ml/min).

Alle ambulant erworbenen UAE, die zur Krankenhauseinweisung dieser Patienten geführt haben, wurden im Rahmen der vom BfArM geförderten multizentrischen pharmakoepidemiologischen Studie (Fördernummer Z12.01-68502-201) erfasst. Die hier vorgestellten pharmakogenetischen Untersuchungen sind Bestandteil dieser Studie. Die Datenerhebung erfolgte nach dem Prinzip der intensivierten Spontanerfassung durch systematische und regelmäßige Befragung der Stationsärzte. Aus den gewonnenen Informationen (wesentliche pharmakoepidemiologische Daten einschließlich einer detaillierten Arzneimittelanamnese sowie klinischer und laborchemischer Befunde) wurde eine Kausalitätsanalyse nach dem Algorithmus von Bégaud (siehe Anhang) für jedes eingenommene Medikament vorgenommen (Bégaud et al. 1985).

Im Rahmen dieser Kausalitätsbeurteilung wurde die Wahrscheinlichkeit des Zusammenhanges zwischen der Medikamenteneinnahme und der aufgetretenen Symptomatik angegeben und ein oder mehrere Medikamente als möglicher, wahrscheinlicher oder sehr wahrscheinlicher Auslöser des UAE identifiziert. UAE, bei denen die Kausalitätsbeurteilung einen zweifelhaften oder unwahrscheinlichen Zusammenhang mit der Medikamenteneinnahme ergab, wurden nicht berücksichtigt. Eine detaillierte Beschreibung der Datenerhebung und Datenbeurteilung findet sich in den Dissertationsarbeiten von Humaid und Kuschel (Humaid 2000, Kuschel 2002).

Bei allen erfassten Patienten mit Diabetes mellitus wurde eine Genotypisierung hinsichtlich der polymorphen arzneimittelmetabolisierenden Enzyme CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 und NAT2 mittels Restriktionsfragmentanalyse nach Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaktion, PCR) durchgeführt. Die genauen Vorschriften für die genetischen Bestimmungen sind in der Sammlung der Standard Operation Procedures (SOP) des Arbeitsbereiches für Klinische Pharmakologie des Universitätsklinikums Jena hinterlegt. Für die pharmakogenetischen Untersuchungen lag die Zustimmung der Ethik-Kommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena an der Medizinischen Fakultät vor.

Die erhobenen Daten und Genotypisierungsbefunde wurden mit Hilfe der Computerprogramme Access 2003, Microsoft Excel 2003 und SPSS 11.1 erfasst und ausgewertet. Die Signifikanzprüfung ( $p < 0,05$ ) erfolgte mittels  $\chi^2$  - Test nach Pearson.

### **3.2. Genetische Bestimmungen**

#### **3.2.1. Genotypisierungsmethoden**

Zur Identifizierung der Allele arzneimittelmetabolisierenden Enzyme *CYP2C8\*3*, *CYP2C9\*2*, *CYP2C9\*3*, *CYP2C19\*2*, *CYP2D6\*3*, *CYP2D6\*4* und *NAT2* wurden die Restriktionsfragmentanalyse nach PCR und zur Identifizierung von *CYP2D6\*6* und T<sub>341</sub>>C von *NAT2* wurde eine allelspezifische PCR eingesetzt.

Die für die genetischen Bestimmungen eingesetzte Desoxyribonukleinsäure (DNA) wurde aus den Leukozyten der EDTA-Blutproben (Vollblut) mittels QIAamp<sup>®</sup> DNA Blood Mini Kits nach den Vorschriften von Qiagen<sup>®</sup> isoliert. Die gewonnene DNA (Template-DNA) wurde zuerst durch PCR vervielfältigt (amplifiziert). Nach der Denaturierung der doppelsträngigen DNA durch Erhitzen eines speziellen Reaktionsgemisches auf 95° C in einzelsträngige DNA wurde Primer-Annealing bei entsprechender Hybridisierungstemperatur der Startmoleküle (Primer) von 60° C durchgeführt. Ausgehend von den Primern wurde die Template-DNA mit Hilfe einer DNA-Polymerase (Taq-Polymerase) und in Anwesenheit von einzelnen DNA-Nukleotiden Adenosin, Cytidin, Guanosin und Thymin komplementär zu einem Doppelstrang ergänzt.

Bei der Restriktionsfragmentanalyse wurden bestimmte Basenfrequenzen an dem in der PCR amplifizierten DNA-Abschnitt durch die Restriktionsenzyme erkannt und die DNA wurde an genau definierter Stelle durch Restriktionsendonukleasen gespalten. Punktmutationen, die die DNA-Sequenz verändern, können eine Schnittstelle zerstören oder eine neue schaffen, so dass das Wildtyp-Allel und die untersuchte Allelvariante unterschiedliche Fragmente liefern (Mühlhardt 2002).

Zum Nachweis bestimmter Mutationen, die durch eine Restriktionsfragmentanalyse nicht zu bestimmen waren (*CYP2D6\*6* und T<sub>341</sub>>C von *NAT2*), wurde eine allelspezifische PCR durchgeführt. Bei diesem Verfahren wurden zwei verschiedene Primerpaare verwendet, von denen ein Paar zur Sequenz des Wildtyp-Allels, das andere Paar zur Sequenz des mutierten Allels komplementär war. Die gebildeten PCR-Produkte gaben Aufschluss über das Vorliegen der untersuchten Mutation.

Die durch Restriktionsfragmentanalyse und allelspezifische PCR gewonnenen DNA-Fragmente wurden in der Gelelektrophorese aufgetrennt. Durch anschließende Färbung der DNA mit Ethidiumbromid wurde die DNA unter UV-Strahlung sichtbar gemacht. Die Allele konnten aus dem mit der Fotokamera festgehaltenen Fragmentmuster bestimmt werden.

### **3.2.2. *CYP2C8-Genotypisierung und Klassifikation***

Der Nachweis des *CYP2C8*\*3 Polymorphismus als häufigsten *CYP2C8*-Polymorphismus bei Kaukasiern erfolgte entsprechend der Beschreibung von Dai und Mitarbeitern durch Restriktionsfragmentanalyse nach vorhergehender Amplifizierung der entsprechenden Genabschnitte mittels PCR (Dai et al. 2001).

Die ermittelten Genotypen wurden in schnelle Metabolisierer (*CYP2C8*\*1/\*1), intermediäre Metabolisierer (*CYP2C8*\*1/\*3) und langsame Metabolisierer (*CYP2C8*\*3/\*3) eingeteilt (Kirchheiner et al. 2002a).

### **3.2.3. *CYP2C9-Genotypisierung und Klassifikation***

Das *CYP2C9*-Gen wurde auf das Vorliegen der beiden in der kaukasischen Bevölkerung hauptsächlich vorkommenden Allelvarianten *CYP2C9*\*2 und *CYP2C9*\*3 untersucht. Die Mutationsanalyse erfolgte durch die Kombination von PCR und Restriktionsfragmentanalyse nach der von Sullivan-Klose und Mitarbeitern beschriebenen Methode (Sullivan-Klose et al. 1996).

Die Klassifizierung der ermittelten Genotypen erfolgte in schnelle Metabolisierer (*CYP2C9*\*1/\*1, *CYP2C9*\*1/\*2 und *CYP2C9*\*2/\*2), intermediäre Metabolisierer (*CYP2C9*\*1/\*3 und *CYP2C9*\*2/\*3) und langsame Metabolisierer (*CYP2C9*\*3/\*3) (Kirchheiner et al. 2002a).

### **3.2.4. *CYP2C19-Genotypisierung und Klassifikation***

Die *CYP2C19*-Genotypisierung haben wir auf den Nachweis der Mutation *CYP2C19*\*2 beschränkt, wodurch ca. 83 % der europäischen Langsam-Metabolisierer identifiziert werden können (de Morais et al. 1994). Wurde diese Mutation nicht gefunden, wurde der Wildtyp *CYP2C19*\*1 angenommen.

Die Identifizierung des Allels *CYP2C19*\*2 erfolgte durch die Kombination von PCR und Restriktionsfragmentanalyse nach der Beschreibung von de Morais und Mitarbeitern (de Morais et al. 1994). Die Einteilung der ermittelten *CYP2C19*-Genotypen erfolgte in schnelle Metabolisierer (*CYP2C19*\*1/\*1), intermediäre Metabolisierer (*CYP2C19*\*1/\*2) und langsame Metabolisierer (*CYP2C19*\*2/\*2) (Brockmöller et al. 2000).

### **3.2.5. CYP2D6-Genotypisierung und Klassifikation**

Das *CYP2D6*-Gen wurde auf das Vorliegen der mit dem Verlust der Enzymaktivität verbundenen Defektallele *CYP2D6\*3*, *CYP2D6\*4* und *CYP2D6\*6* untersucht. Wenn diese Allele nicht nachgewiesen werden konnten, wurde der Wildtyp *CYP2D6\*1* angenommen. Die Allele *CYP2D6\*3* und *CYP2D6\*4* wurden durch Kombination von PCR und Restriktionsfragmentanalyse nach Beschreibung von Smith und Mitarbeitern (Smith et al. 1992) und das Allel *CYP2D6\*6* wurde durch allelspezifische PCR nach der Beschreibung von Daly und Mitarbeitern identifiziert (Daly et al. 1996).

Die Klassifizierung der ermittelten Genotypen erfolgte in schnelle Metabolisierer (*CYP2D6\*1/\*1*), intermediäre Metabolisierer (*CYP2D6\*1/\*3*, *CYP2D6\*1/\*4* und *CYP2D6\*1/\*6*) und langsame Metabolisierer (*CYP2D6\*3/\*3*, *CYP2D6\*4/\*4* und *CYP2D6\*6/\*6*) (Kirchheiner et al. 2002a).

### **3.2.6. NAT2-Genotypisierung und Klassifikation**

Die NAT2-Allele wurden nach der Beschreibung von Cascorbi, Grant, Hein und Mitarbeitern bestimmt (Cascorbi et al. 1995, Grant et al. 1997, Hein et al. 1994). Sechs Mutationen wurden untersucht. Die Bestimmung der Mutation T<sub>341</sub>>C erfolgte durch allelspezifische PCR.

Die Mutationen C<sub>282</sub>>T, C<sub>481</sub>>T, G<sub>590</sub>>A, A<sub>803</sub>>G und G<sub>857</sub>>A wurden durch die Kombination von PCR und der Restriktionsfragmentanalyse identifiziert. Die Ableitung des Phänotyps aus den ermittelten Allelen erfolgte in schnelle und langsame Metabolisierer (Cascorbi et al. 1995, Grant et al. 1997, Hein et al. 1994, Hein et al. 2003, Vatsis et al. 1995) (siehe Auswertungstabelle für die ermittelten NAT2-Genotypen im Anhang).

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Patientenpopulation

Im Untersuchungszeitraum Februar 2003 bis Oktober 2003 (9 Monate) wurden insgesamt 398 Patienten mit Diabetes mellitus in den Kliniken für Innere Medizin des Sophien- und Hufeland Klinikums Weimar erfasst. 15 Patienten (3,8 %) hatten Diabetes mellitus Typ 1 und 383 Patienten (96,2 %) Diabetes mellitus Typ 2.

Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 unterschieden sich signifikant in Alter (42,2 Jahre vs. 71,7 Jahre,  $p = 0,001$ ) und BMI (27,8 vs. 29,2,  $p = 0,01$ ) von den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (Tabelle 1). Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 waren häufig Männer (53 % vs. 47 %), Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 vermehrt Frauen (59 % vs. 41 %). Die ermittelten Unterschiede in der Geschlechtsverteilung waren jedoch ohne statistische Signifikanz ( $p = 0,397$ ) (Tabelle 1). Zwischen der durchschnittlichen Diabetesdauer der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 konnten wir keinen signifikanten Unterschied feststellen (10,4 Jahre vs. 13,4 Jahre,  $p = 0,275$ ).

**Tabelle 1** Charakteristika der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus ( $n = 398$ )

	<i>erfasste Patienten mit Diabetes mellitus (<math>n = 398</math>)</i>
Alter (Jahre) gesamt	70,5 ± 13,4
davon Diabetes mellitus Typ 1	42,2 ± 14,3*
davon Diabetes mellitus Typ 2	71,7 ± 12,1*
Frauen / Männer (%) gesamt	57 / 43
davon Diabetes mellitus Typ 1	47 / 53
davon Diabetes mellitus Typ 2	59 / 41
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) gesamt	29,1 ± 5,6
davon Diabetes mellitus Typ 1	27,8 ± 9,4*
davon Diabetes mellitus Typ 2	29,2 ± 5,4*
Diabetesdauer (Jahre) gesamt	10,5 ± 7,4
davon Diabetes mellitus Typ 1	13,4 ± 10,1
davon Diabetes mellitus Typ 2	10,4 ± 7,3

\* - signifikanter Unterschied

Hinsichtlich der erfassten Laborparameter haben wir signifikante Unterschiede im HbA1c-Wert (8,84 % vs. 7,38 %,  $p = 0,000$ ) und in der Kreatininclearance (108,4 ml/min vs. 65,6 ml/min,  $p = 0,001$ ) zwischen den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 festgestellt (Tabelle 2). ASAT, ALAT, AP und GGT dienen der Beurteilung der Leberfunktion bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus. Diese Leberwerte lagen bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 im Normbereich exklusive 2 Patienten mit Leberfunktionsstörung infolge UAE und unterschieden sich nicht signifikant (Tabelle 2).

**Tabelle 2** Laborparameter der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus (n = 398)

<i>Laborparameter</i>	<i>Ergebnisse</i>
HbA1c-Wert (%) Referenzbereich 4,3 – 6,1% gesamt	7,45 ± 1,58
davon Diabetes mellitus Typ 1	8,84 ± 1,80*
davon Diabetes mellitus Typ 2	7,38 ± 1,54*
Kreatininclearance (ml/min) gesamt	67,3 ± 37,4
davon Diabetes mellitus Typ 1	108,4 ± 49,6*
davon Diabetes mellitus Typ 2	65,6 ± 36,1*
Leberwerte gesamt	
Normbereich ♂ <0,62 und ♀ <0,52 ASAT (µmol/s.l)	0,56 ± 0,39 µmol/s.l
Normbereich ♂ <0,68 und ♀ <0,52 ALAT (µmol/s.l)	0,51 ± 0,40 µmol/s.l
Normbereich ♂ 0,67-2,5 und ♀ <5,0 AP (µmol/s.l)	3,85 ± 2,43 µmol/s.l
Normbereich ♂ <0,82 und ♀ <0,53 GGT (µmol/s.l)	1,07 ± 1,60 µmol/s.l
davon Diabetes mellitus Typ 1	
ASAT (µmol/s.l)	0,47 ± 0,13 µmol/s.l
ALAT (µmol/s.l)	0,47 ± 0,16 µmol/s.l
AP (µmol/s.l)	3,35 ± 1,44 µmol/s.l
GGT (µmol/s.l)	0,56 ± 0,41 µmol/s.l
davon Diabetes mellitus Typ 2	
ASAT (µmol/s.l)	0,57 ± 0,40 µmol/s.l
ALAT (µmol/s.l)	0,52 ± 0,41 µmol/s.l
AP (µmol/s.l)	3,87 ± 2,46 µmol/s.l
GGT (µmol/s.l)	1,09 ± 1,62 µmol/s.l

\* - signifikanter Unterschied

77,4 % aller erfassten Patienten mit Diabetes mellitus hatten eine eingeschränkte Nierenfunktion bei einer Kreatininclearance < 90 ml/min, Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 signifikant häufiger als Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (78,9 % vs. 40,0 %, p = 0,000) (Tabelle 3).

**Tabelle 3** Unterteilung der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus hinsichtlich der Nierenfunktion

<i>Nierenfunktion</i>	<i>Patienten mit Diabetes mellitus Typ1 (n = 15)</i>	<i>Patienten mit Diabetes mellitus Typ2 (n = 383)</i>
normale Nierenfunktion (Kreatininclearance > 90 ml/min)	9 (60,0 %)	81 (21,1 %)
eingeschränkte Nierenfunktion (Kreatininclearance < 90 ml/min)	6 (40,0 %)	302 (78,9 %)

## 4.2. Genotypisierungsbefunde

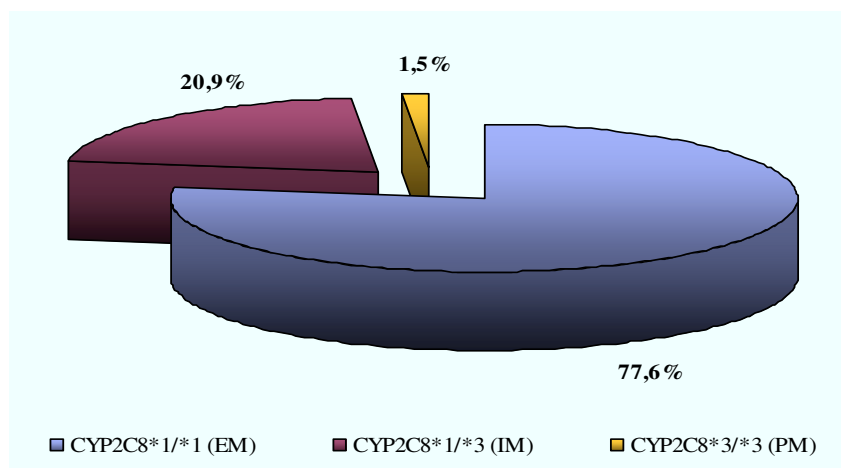
### 4.2.1. CYP2C8-Genotypisierungsbefunde der gesamten Patientengruppe

In unsere Untersuchung wurde das mit einer verringerten Enzymaktivität assoziierte *CYP2C8\*3-Allel* des CYP2C8-Genotyps eingeschlossen. Die Allelfrequenz für CYP2C8\*3 lag bei 11,9 %.

**Tabelle 4** Häufigkeiten der CYP2C8-Genotypen (Allel CYP2C8\*3) bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus (n = 398)

<i>CYP2C8-Genotyp</i>	<i>Patientenanzahl (n=398)</i>	<i>absolute Häufigkeit [%]</i>
CYP2C8*1/*1	309	77,6
CYP2C8*1/*3	83	20,9
CYP2C8*3/*3	6	1,5

77,6 % der Patienten waren homozygote Wildtyp-Allelträger (Genotyp CYP2C8\*1/\*1), die die schnellen Metabolisierer (EM), repräsentieren (Tabelle 4 und Abbildung 1). 20,9 % der Patienten wurden als heterozygote \*3-Allelträger (Genotyp CYP2C8\*1/\*3) diagnostiziert, die als intermediäre Metabolisierer (IM) klassifiziert wurden. Der Anteil der homozygoten \*3-Allelträger (Genotyp CYP2C8\*3/\*3), die die langsamen Metabolisierer repräsentieren betrug 1,5 %.



**Abbildung 1** Häufigkeit der CYP2C8-Genotypen und abgeleiteten CYP2C8-Phänotypen (n = 398)

#### 4.2.1.1. *CYP2C8-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Vergleich zu den CYP2C8-Genotypisierungsbefunden der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2*

Die erfassten Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (n = 15) und Typ 2 (n = 383) wurden hinsichtlich des CYP2C8 (Allel CYP2C8\*3) genauer betrachtet. Alle 6 Patienten, die PM repräsentieren (Genotyp CYP2C8\*3/\*3), waren Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (Tabelle 5). Der Anteil der heterozygoten \*3-Allelträger (Genotyp CYP2C8\*1/\*3) war bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 höher als bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (21,1 % vs. 13,3 %). Die festgestellten Unterschiede waren jedoch statistisch nicht signifikant (p = 0,663).

**Tabelle 5** Häufigkeiten der CYP2C8-Genotypen (Allel CYP2C8\*3) bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2

<i>CYP2C8-Genotyp</i>	<i>erfasste Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (n = 15)</i>	<i>erfasste Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (n = 383)</i>
CYP2C8*1/*1	13 (86,7 %)	296 (77,3 %)
CYP2C8*1/*3	2 (13,3 %)	81 (21,1 %)
CYP2C8*3/*3	-	6 (1,6 %)

Die Allelfrequenz für CYP2C8\*3 lag bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 wesentlich niedriger als bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (6,6 % vs. 12,1%).



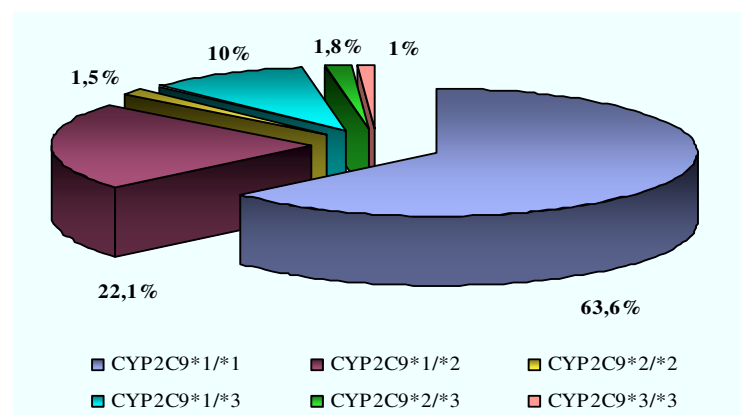
#### 4.2.2. CYP2C9-Genotypisierungsbefunde der gesamten Patientengruppe

Unsere Untersuchung der *Allele* CYP2C9\*2 und CYP2C9\*3 des CYP2C9-Genotyps ergab folgende Ergebnisse (Tabelle 6).

**Tabelle 6** Häufigkeiten der CYP2C9-Genotypen (Allele CYP2C9\*2 und CYP2C9\*3) bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus (n = 398)

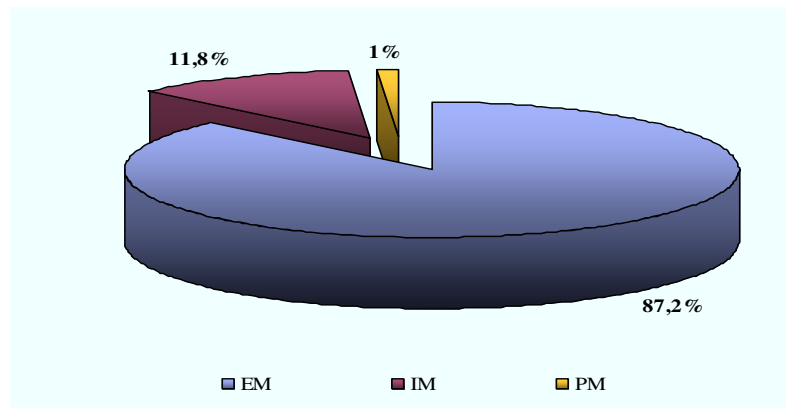
<i>CYP2C9-Genotyp</i>	<i>Patientenanzahl (n=398)</i>	<i>absolute Häufigkeit [%]</i>
CYP2C9*1/*1	253	63,6
CYP2C9*1/*2	88	22,1
CYP2C9*2/*2	6	1,5
<b>Summe EM</b>	<b>347</b>	<b>87,2</b>
CYP2C9*1/*3	40	10,0
CYP2C9*2/*3	7	1,8
<b>Summe IM</b>	<b>47</b>	<b>11,8</b>
CYP2C9*3/*3	4	1,0
<b>Summe PM</b>	<b>4</b>	<b>1,0</b>

Mit einem Anteil von 63,6 % kamen die homozygoten Wildtyp-Allelträger (Genotyp CYP2C9\*1/\*1) am häufigsten vor (Abbildung 2). Der Genotyp CYP2C9\*1/\*2 stellte den zweihäufigsten ermittelten Genotyp dar (22,1 %). Der dritthäufigste Genotyp mit 10,0 % wurde durch CYP2C9\*1/\*3 repräsentiert. Andere Genotype traten wesentlich seltener auf. Das entsprach einer Allelfrequenz für CYP2C9\*2 von 13,4 % und für CYP2C9\*3 von 6,9 %.



**Abbildung 2** Häufigkeit der CYP2C9-Genotypen (n = 398)

Die EM wurden am häufigsten repräsentiert (87,2 %) (Abbildung 3). Der Anteil der IM betrug 11,8 % und 1,0 % der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus wurden als PM klassifiziert.



**Abbildung 3** Häufigkeit der abgeleiteten CYP2C9-Phänotypen (n = 398)

#### 4.2.2.1. *CYP2C9-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Vergleich zu den CYP2C9-Genotypisierungsbefunden der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2*

Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 wurde häufiger das Allel CYP2C9\*1/\*2 (22,4 % vs. 13,3 %) und seltener das Allel CYP2C9\*1/\*3 (10,0 % vs. 13,3 %) ermittelt als bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (Tabelle 7). Die homozygoten Allelträger von CYP2C9\*2/\*2 und CYP2C9\*3/\*3 und die heterozygoten Allelträger von CYP2C9\*2/\*3 waren ausschließlich Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2. Die ermittelten Häufigkeitsunterschiede waren statistisch nicht signifikant ( $p = 0,900$ ).

**Tabelle 7** Häufigkeiten der CYP2C9-Genotypen (Allele CYP2C9\*2 und CYP2C9\*3) bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2

<i>CYP2C9-Genotyp</i>	<i>erfasste Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (n = 15)</i>	<i>erfasste Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (n = 383)</i>
CYP2C9*1/*1	11 (73,4 %)	242 (63,2 %)
CYP2C9*1/*2	2 (13,3 %)	86 (22,4 %)
CYP2C9*2/*2	-	6 (1,6 %)
<b>Summe EM</b>	<b>13 (74,7 %)</b>	<b>334 (87,2 %)</b>
CYP2C9*1/*3	2 (13,3 %)	38 (10,0 %)
CYP2C9*2/*3	-	7 (1,8 %)
<b>Summe IM</b>	<b>2 (13,3 %)</b>	<b>45 (11,8 %)</b>
CYP2C9*3/*3	-	4 (1,0 %)
<b>Summe PM</b>	<b>-</b>	<b>4 (1,0 %)</b>

Die ermittelten Allelfrequenzen für CYP2C9\*2 und CYP2C9\*3 waren zwischen den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 vergleichbar (6,6 % vs. 6,6 % und 13,7 % vs. 6,9 %).

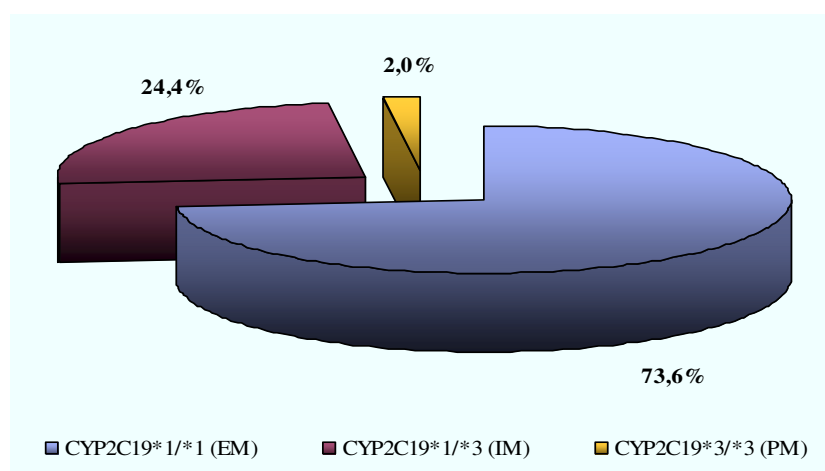
#### 4.2.3. *CYP2C19-Genotypisierungsbefunde der gesamten Patientengruppe*

In unsere Untersuchung wurde das *Allel CYP2C19\*2* des CYP2C19-Genotyps als das häufigste bei den Europäern vorkommende Allel einbezogen. Die Allelfrequenz für CYP2C19\*2 betrug 14,2 %. Die homozygoten Wildtyp-Allelträger (Genotyp CYP2C19\*1/\*1), die die EM repräsentieren, kamen mit 73,6 % am häufigsten vor (Tabelle 8 und Abbildung 4).

**Tabelle 8** Häufigkeiten der CYP2C19-Genotypen (Allel CYP2C19\*2) bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus (n = 398)

<i>CYP2C19-Genotyp</i>	<i>Patientenanzahl (n=398)</i>	<i>absolute Häufigkeit [%]</i>
CYP2C19*1/*1	293	73,6
CYP2C19*1/*2	97	24,4
CYP2C19*2/*2	8	2,0

Der Genotyp CYP2C19\*1/\*2, aus dem sich der Phänotyp der IM ableitet, wurde als der zweihäufigste ermittelte Genotyp bei dieser Patientengruppe ermittelt (24,4 %). 2,0 % der erfassten Patienten waren die homozygoten \*2-Allelträger (CYP2C19\*2/\*2), die als PM klassifiziert wurden.



**Abbildung 4** Häufigkeit der CYP2C19-Genotypen und abgeleiteten CYP2C19-Phänotypen (n = 398)

#### 4.2.3.1. *CYP2C19-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Vergleich zu den CYP2C19-Genotypisierungsbefunden der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2*

Beim Vergleichen der CYP2C19-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 haben wir keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Die heterozygoten CYP2C19\*1/\*2-Allelträger wurden häufiger und die homozygoten CYP2C19\*2/\*2-Allelträger seltener bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 als bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 diagnostiziert (24,6 % vs. 20,0 % und 1,8 % vs. 6,7 %,  $p = 0,406$ ) (Tabelle 9).

**Tabelle 9** Häufigkeiten der CYP2C19-Genotypen (Allel CYP2C19\*2) bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2

<i>CYP2C19-Genotyp</i>	<i>erfasste Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (n = 15)</i>	<i>erfasste Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (n = 383)</i>
CYP2C19*1/*1	11 (73,3 %)	282 (73,6 %)
CYP2C19*1/*2	3 (20,0 %)	94 (24,6 %)
CYP2C19*2/*2	1 (6,7 %)	7 (1,8 %)

Die Häufigkeit des Defektallels CYP2C19\*2 war bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 geringer als bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (14,1 % vs. 16,7 %).

#### 4.2.4. *CYP2D6-Genotypisierungsbefunde der gesamten Patientengruppe*

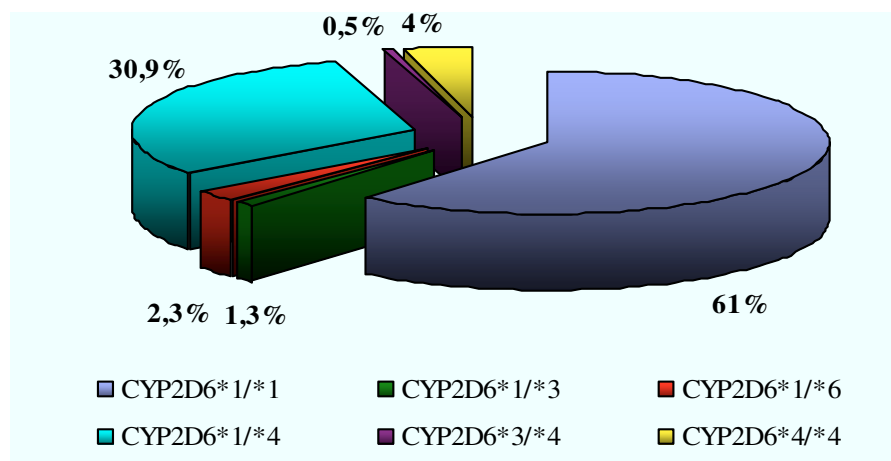
In Rahmen unserer Untersuchungen wurden die *Allele* CYP2D6\*3 (Allelfrequenz 0,9 %), CYP2D6\*4 (Allelfrequenz 19,7 %) und CYP2D6\*6 (Allelfrequenz 1,1 %) des CYP2D6-Genotyps ermittelt (Tabelle 10).

Patienten, bei denen keine der o. g. Allele nachgewiesen werden konnten, wurden dem Wildtyp zugeordnet.

**Tabelle 10** Häufigkeiten der CYP2D6-Genotypen (Allele CYP2D6\*3, CYP2D6\*4 und CYP2D6\*6) bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus (n=398)

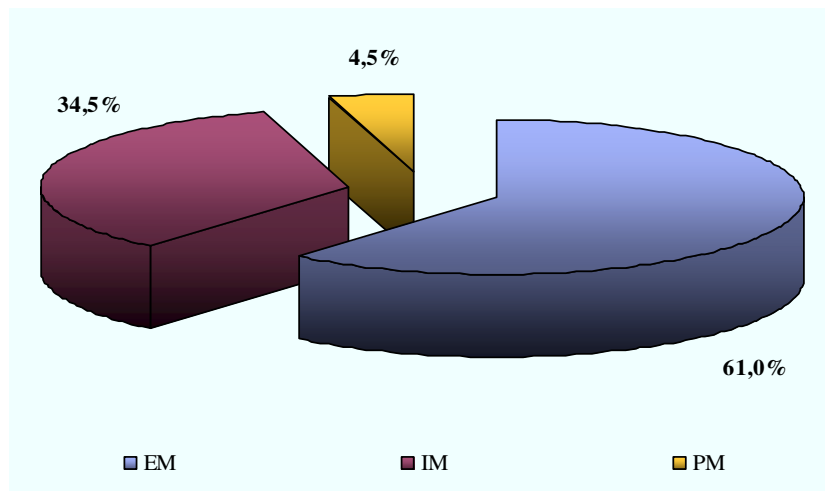
<i>CYP2D6-Genotyp</i>	<i>Patientenanzahl (n=398)</i>	<i>absolute Häufigkeit [%]</i>
CYP2D6*1/*1	243	61,0
<b>Summe EM</b>	<b>243</b>	<b>61,0</b>
CYP2D6*1/*3	5	1,3
CYP2D6*1/*4	123	30,9
CYP2D6*1/*6	9	2,3
<b>Summe IM</b>	<b>137</b>	<b>34,5</b>
CYP2D6*3/*4	2	0,5
CYP2D6*4/*4	16	4,0
<b>Summe PM</b>	<b>18</b>	<b>4,5</b>

Die homozygoten Wildtyp-Allelträger (CYP2D6\*1/\*1) kamen am häufigsten vor (61,0 %, Abbildung 5). Der Anteil des Genotyps CYP2D6\*1/\*4 betrug 30,9 %. Der dritthäufigste Genotyp war CYP2D6\*4/\*4 (4,0 %). Andere Genotypen traten wesentlich seltener auf. Die Genotypen CYP2D6\*3/\*3 und CYP2D6\*6/\*6 konnten bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus nicht nachgewiesen werden.



**Abbildung 5** Häufigkeit der CYP2D6-Genotypen (n = 398)

Die EM waren am häufigsten vertreten (61,0 %) (Abbildung 6). Die IM hatten einen Anteil von 34,5 % und die PM wurden bei 4,5 % der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus ermittelt.



**Abbildung 6** Häufigkeit der abgeleiteten CYP2D6-Phänotypen (n = 398)

#### **4.2.4.1. *CYP2D6-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Vergleich zu den CYP2D6-Genotypisierungsbefunden der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2***

Im Rahmen unserer Untersuchungen haben wir festgestellt, dass die homozygoten Wildtyp-Allelträger (CYP2D6\*1/\*1), die heterozygoten Träger der Genotypen CYP2D6\*1/\*3 und CYP2D6\*1/\*4 bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 häufiger als bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 vertreten waren (66,6 % vs. 60,8 % bzw. 6,7 % vs. 1,1 % bzw. 6,7 % vs. 2,1%) (Tabelle 11). Die Genotype CYP2D6\*3/\*4 und CYP2D6\*4/\*4 kamen ausschließlich bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 vor. Somit wurden bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 keine PM festgestellt. Die ermittelten Häufigkeitsunterschiede von einzelnen CYP2D6-Allelen waren jedoch statistisch nicht signifikant ( $p = 0,273$ ).

Dementsprechend war die Häufigkeit des Defektallels CYP2D6\*3 höher bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 als bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (3,3 % vs. 0,8 %). Das Defektallel CYP2D6\*4 kam in beiden Patientengruppen mit gleicher Häufigkeit vor (20,0 % vs. 20,1 %). Die Allelfrequenz für CYP2D6\*6 betrug 3,3 % bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und 2,1 % bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2.

**Tabelle 11** Häufigkeiten der CYP2D6-Genotypen (Allele CYP2D6\*3, CYP2D6\*4 und CYP2D6\*6) bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2

<i>CYP2D6-Genotyp</i>	<i>erfasste Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (n = 15)</i>	<i>erfasste Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (n = 383)</i>
CYP2D6*1/*1	10 (66,6 %)	233 (60,8 %)
<b>Summe EM</b>	<b>10 (66,6 %)</b>	<b>233 (60,8 %)</b>
CYP2D6*1/*3	1 (6,7 %)	4 (1,1 %)
CYP2D6*1/*4	3 (20,0 %)	120 (31,3 %)
CYP2D6*1/*6	1 (6,7 %)	8 (2,1 %)
<b>Summe EM</b>	<b>5 (33,4 %)</b>	<b>132 (34,5 %)</b>
CYP2D6*3/*4	-	2 (0,5 %)
CYP2D6*4/*4	-	16 (4,2 %)
<b>Summe PM</b>	<b>-</b>	<b>18 (4,7 %)</b>

#### 4.2.5. NAT2-Genotypisierungsbefunde der gesamten Patientengruppe

Die Langsam-Acetylierer-Allele NAT2\*5B (41,8 %) und NAT2\*6A (28,2 %) sowie das Schnell-Acetylierer-Allel NAT2\*4 (22,8 %) stellten die häufigsten Allele dar (Tabelle 12).

**Tabelle 12** NAT2-Allelfrequenzen bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus (n = 398)

<i>NAT2-Allel</i>	<i>Allelenanzahl (n=398)</i>	<i>NAT2-Allelfrequenzen [%]</i>
*4	181	22,8
*5A	25	3,1
*5B	333	41,8
*5C	14	1,7
*5D	2	0,3
*6A	223	28,0
*6B	2	0,3
*7B	13	1,6
*12A	2	0,3
*13	1	0,1
<b>Summe der NAT2-Allele</b>	<b>796</b>	<b>100,0</b>

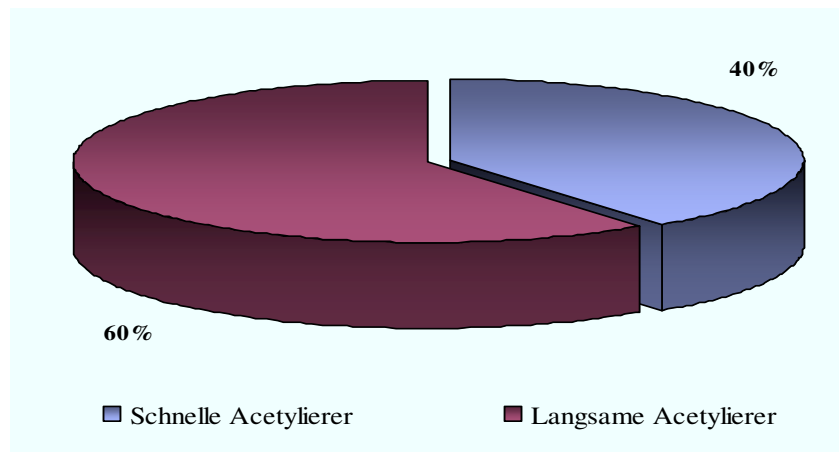
Bei den untersuchten Patienten wurden 10 verschiedene Schnell-Acetylierer-Genotypen und 13 verschiedene Langsam-Acetylierer-Genotypen bestimmt. *NAT2\*4/\*5B* (18,0 %), *NAT2\*4/\*6A* (12,8 %), *NAT2\*5B/\*5B* (17,8 %) und *NAT2\*5B/\*6A* (22,6 %) wurden am häufigsten vertreten. Andere *NAT2*-Genotypen traten wesentlich seltener auf (Tabelle 13).

**Tabelle 13** Häufigkeiten der *NAT2*-Genotypen bei den erfassten Patienten (n = 398)

<i>NAT2-Genotyp</i>	<i>Patientenanzahl (n=398)</i>	<i>Absolute Häufigkeit [%]</i>
<i>NAT2*4/*4</i>	24	6,0
<i>NAT2*4/*5A</i>	2	0,5
<i>NAT2*4/*5B</i>	72	18,0
<i>NAT2*4/*5C</i>	4	1,0
<i>NAT2*4/*6A</i>	51	12,8
<i>NAT2*4/*7B</i>	2	0,5
<i>NAT2*4/*12A</i>	1	0,3
<i>NAT2*4/*13</i>	1	0,3
<i>NAT2*5B/*12A</i>	1	0,3
<i>NAT2*6A/*12A</i>	1	0,3
<b><i>Summe Schnell-Acetylierer</i></b>	<b><i>159</i></b>	<b><i>40,0</i></b>
<i>NAT2*5A/*5B</i>	15	3,7
<i>NAT2*5A/*6A</i>	6	1,5
<i>NAT2*5A/*6B</i>	1	0,3
<i>NAT2*5B/*5B</i>	71	17,8
<i>NAT2*5B/*5C</i>	6	1,5
<i>NAT2*5B/*6A</i>	90	22,6
<i>NAT2*5B/*7B</i>	7	1,7
<i>NAT2*5C/*5C</i>	2	0,6
<i>NAT2*5D/*5D</i>	1	0,3
<i>NAT2*6A/*6A</i>	35	8,7
<i>NAT2*6A/*6B</i>	1	0,3
<i>NAT2*6A/*7B</i>	4	1,0
<b><i>Summe Langsam-Acetylierer</i></b>	<b><i>239</i></b>	<b><i>60,0</i></b>



Phänotypisch waren 40,0 % der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus schnelle Acetylierer und 60,0 % der Patienten langsame Acetylierer (Abbildung 7).



**Abbildung 7** Häufigkeit der abgeleiteten Acetylierer-Phänotypen (n = 398)

#### 4.2.5.1. *NAT2-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 im Vergleich zu den NAT2-Genotypisierungsbefunden der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2*

Die ermittelten Allelfrequenzen waren bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 vergleichbar (Tabelle 14).

**Tabelle 14** NAT2-Allelfrequenzen bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2

<i>NAT2-Allel</i>	<i>Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (n = 15)</i>	<i>Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (n = 383)</i>
*4	23,3 %	22,7 %
*5A	3,3 %	3,0 %
*5B	40,0 %	41,9 %
*5C	-	1,7 %
*5D	-	0,3 %
*6A	30,1 %	28,2 %
*6B	3,3 %	0,2 %
*7B	-	1,6 %
*12A	-	0,3 %
*13	-	0,1 %
<i>Summe der NAT2-Allele</i>	<i>100 %</i>	<i>100,0 %</i>

Die NAT2-Häufigkeitsunterschiede zwischen den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 waren ohne statistische Signifikanz ( $p = 0,981$ ) (Tabelle 15).

**Tabelle 15** Häufigkeiten der NAT2-Genotypen (Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 vs. Typ 2)

<i>NAT2-Genotyp</i>	<i>Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (n = 15)</i>	<i>Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (n = 383)</i>
NAT2*4/*4	-	24 (6,2 %)
NAT2*4/*5A	-	2 (0,5 %)
NAT2*4/*5B	5 (33,4 %)	67 (17,5 %)
NAT2*4/*5C	-	4 (1,0 %)
NAT2*4/*6A	2 (13,3 %)	49 (12,8 %)
NAT2*4/*7B	-	2 (0,5 %)
NAT2*4/*12A	-	1 (0,3 %)
NAT2*4/*13	-	1 (0,3 %)
NAT2*5B/*12A	-	1 (0,3 %)
NAT2*6A/*12A	-	1 (0,3 %)
<b><i>Summe Schnell-Acetylierer</i></b>	<b><i>7 (46,7 %)</i></b>	<b><i>152 (39,7 %)</i></b>
NAT2*5A/*5B	-	15 (3,9 %)
NAT2*5A/*6A	-	6 (1,6 %)
NAT2*5A/*6B	1 (6,7 %)	-
NAT2*5B/*5B	2 (13,3 %)	69 (18,0 %)
NAT2*5B/*5C	-	6 (1,5 %)
NAT2*5B/*6A	3 (20,0 %)	87 (22,7 %)
NAT2*5B/*7B	-	7 (1,8 %)
NAT2*5C/*5C	-	2 (0,6 %)
NAT2*5D/*5D	-	1 (0,3 %)
NAT2*6A/*6A	2 (13,3 %)	33 (8,6 %)
NAT2*6A/*6B	-	1 (0,3 %)
NAT2*6A/*7B	-	4 (1,0 %)
<b><i>Summe Langsam-Acetylierer</i></b>	<b><i>8 (53,3 %)</i></b>	<b><i>231 (60,3 %)</i></b>

### **4.3.    *UAE bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus***

#### **4.3.1.   *UAE-Häufigkeit und Charakteristika der Patienten mit UAE***

Von den 398 erfassten Patienten mit Diabetes mellitus haben 58 Patienten 59 UAE erlitten. Bei einem Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 wurden gleichzeitig zwei UAE festgestellt. Das entsprach einer UAE-Häufigkeit von 14,8 % bei dieser Patientengruppe, wobei 26,7 % der UAE bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (n = 4) und 14,4 % der UAE bei den Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (n = 55) diagnostiziert wurden.

Patienten mit Diabetes mellitus, die UAE erlitten haben, unterschieden sich nicht signifikant in Alter, Geschlechtsverteilung, Diabetesdauer, BMI, HbA<sub>1c</sub>, Kreatininclearance und Leberwerten von den Patienten mit Diabetes mellitus, die keine UAE erlitten haben (Tabelle 16).

**Tabelle 16**      Charakteristika der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus mit und ohne UAE

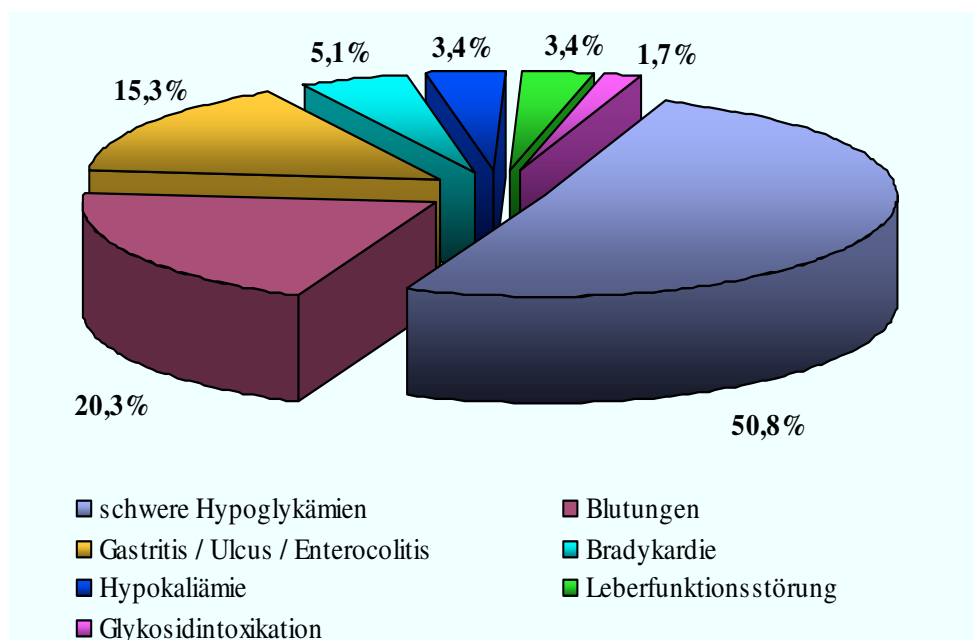
	<i><b>Patienten mit UAE (n=58)</b></i>	<i><b>Patienten ohne UAE (n=340)</b></i>
Alter (Jahre)	71,9 ± 13,5	70,3 ± 13,5
Frauen /Männer (%)	56,9 / 43,1	57,3 / 42,7
Diabetesdauer (Jahre)	12,0 ± 8,2	10,2 ± 7,2
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28,8 ± 5,6	29,2 ± 5,5
HbA <sub>1c</sub> (%)	7,0 ± 1,3	7,5 ± 1,6
Kreatininclearance (ml/min)	67,4 ± 38,9	69,4 ± 37,8
ASAT (µmol/s.l)	0,65 ± 0,69	0,55 ± 0,31
ALAT (µmol/s.l)	0,49 ± 0,52	0,52 ± 0,38
AP (µmol/s.l)	4,28 ± 4,52	3,77 ± 1,86
GGT (µmol/s.l)	1,31 ± 2,62	1,03 ± 1,35

#### 4.3.2. UAE-Spektrum

Die häufigsten diagnostizierten UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus mit einem Anteil von 50,8 % stellten die schweren Hypoglykämien (n = 30) dar, die wir als Hypoglykämien mit Bewusstseinsverlust und Notwendigkeit von Glucose i.v. / Glucagon i.m. / KH-Aufnahme definiert haben (Abbildung 8 und Tabelle 17).

Die zweithäufigsten UAE (20,3 %) wurden durch Blutungen (n = 12) (obere gastrointestinale Blutungen und Epistaxis) repräsentiert. Störungen des Verdauungstraktes (n = 9) (Ulcus ventriculi, Gastritis, Enterocolitis) wurden als die dritthäufigsten UAE (15,3 %) ermittelt. Bradykardien (n = 3) stellten mit einem Anteil von 5,1 % die vierthäufigsten erfassten UAE dar.

Bei zwei Patienten (3,4 %) wurde eine Hypokaliämie und bei zwei Patienten (3,4 %) wurde eine Leberfunktionsstörung laborchemisch bei der stationären Aufnahme festgestellt, was auf die Medikamenteneinnahme zurückgeführt werden könnte. Ein Patient (1,7 %) hat eine Glykosidintoxikation erlitten.

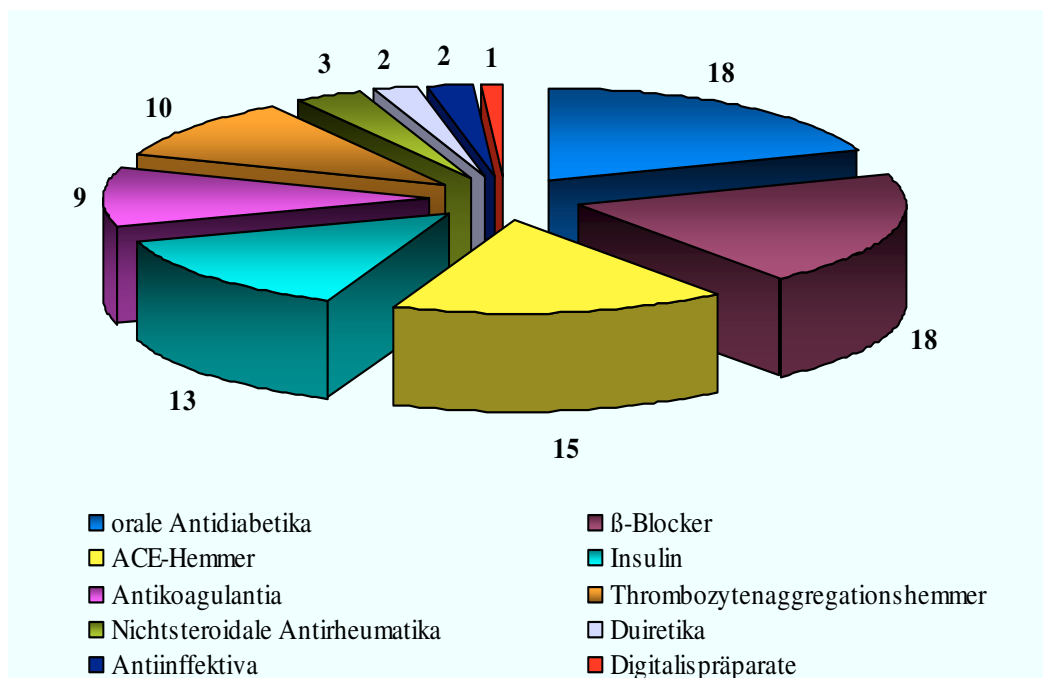


**Abbildung 8** UAE-Spektrum bei den erfassten Patienten (n = 59)

### 4.3.3. UAE-assozierte Arzneimittel

Als UAE-assozierte Arzneimittel wurden Repaglinide, Glimepirid, Glibenclamid, Insulin, Phenprocoumon, Acetylsalicylsäure (ASS), Clopidogrel, Diclofenac, Cotrimoxazol, Metoprolol, Bisoprolol, Torasemid, Furosemid und Digitoxin ermittelt (Tabelle 17).

Von insgesamt 20 UAE-assozierten Arzneimitteln wurden orale Antidiabetika (OAD),  $\beta$ -Blocker, ACE-Hemmer und Insulin am häufigsten verdächtigt, gefolgt von Antikoagulantia und Thrombozytenaggregationshemmern (Abbildung 9). Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR), Diuretika, Antiinfektiva sowie Digitalis-Präparat waren wesentlich seltener an der Auslösung von UAE beteiligt.



**Abbildung 9** UAE-assozierte Arzneimittel (wie oft verdächtigt) (nach ATC-Code)

41,4 % der erfassten UAE-Patienten mit Diabetes mellitus erhielten unter anderem interagierende Medikation. Zu solchen Arzneimitteln gehörten Bisoprolol, Captopril, Enalapril, Lisinopril, Metoprolol, Nebivolol, Propranolol, Ramipril und Sotalol (Tabelle 17). Sie waren an der Auslösung von insgesamt 24 schweren Hypoglykämien beteiligt.

**Tabelle 17** Aufgetretene UAE bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus (n = 59)

<i><b>UAE-Bezeichnung / Anzahl der UAE-Fälle (n = 59)</b></i>	<i><b>UAE-assoziierte Arzneimittel (wie oft verdächtigt)</b></i>
schwere Hypoglykämien (30)	Repaglinide (3)
	Glimepirid (10)
	Glibenclamid (4)
	Insulin (13)
	Bisoprolol (2)
	Captopril (2)
	Enalapril (8)
	Lisinopril (2)
	Metoprolol (8)
	Nebivolol (2)
	Propranolol (2)
	Ramipril (3)
	Sotalol (1)
Blutungen (12): - obere gastrointestinale Blutung (10) - Epistaxis (2)	Phenprocoumon (9)
	ASS (2)
	Clopidogrel (2)
Gastritis (4) Ulcus ventriculi (4) Enterocolitis (1)	ASS (4)
	Clopidogrel (2)
	Diclofenac (3)
	Cotrimoxazol (1)
Bradykardie (3)	Metoprolol (2)
	Bisoprolol (1)
Hypokaliämie (2)	Torasemid (1)
	Furosemid (1)
Leberfunktionsstörung (2)	Cotrimoxazol (1)
	Glibenclamid (1)
Glykosidintoxikation (1)	Digitoxin (1)

#### 4.3.4. *UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme und Genotypisierungsbefunde der erfassten UAE-Patienten mit Diabetes mellitus*

16 von 20 UAE-assoziierten Arzneimitteln (80,0 %) wurden als Substrate der jeweils untersuchten Enzyme ermittelt. Sie waren an der Auslösung von 50 UAE (84,7 % aller erfassten UAE) beteiligt (Tabelle 18).

**Tabelle 18**      Ermittelte UAE-assoziierte Arzneimittel als Substrate der untersuchten Enzyme

<i>UAE-Bezeichnung / Anzahl der UAE-Fälle (n = 50)</i>	<i>UAE-assoziierte Arzneimittel</i>	<i>Substrate der untersuchten Enzyme</i>
schwere Hypoglykämien (22)	Repaglinide	CYP2C8 / CYP2C9
	Glimepirid	CYP2C8 / CYP2C9
	Glibenclamid	CYP2C8 / CYP2C9
	Bisoprolol	CYP2D6
	Captopril	CYP2D6
	Metoprolol	CYP2D6 / CYP2C19
	Propranolol	CYP2D6 / CYP2C19
Blutungen (12): - obere gastrointestinale Blutung (10) - Epistaxis (2)	Phenprocoumon	CYP2C9
	ASS	CYP2C8 / CYP2C9
	Clopidogrel	CYP2C8 / CYP2C9
Gastritis (4) Ulcus ventriculi (4) Enterocolitis (1)	ASS	CYP2C8 / CYP2C9
	Clopidogrel	CYP2C8 / CYP2C9
	Diclofenac	CYP2C8 / CYP2C9 / CYP2C19
	Cotrimoxazol	NAT2
Bradykardie (3)	Metoprolol	CYP2D6 / CYP2C19
	Bisoprolol	CYP2D6
Hypokaliämie (2)	Torasemid	CYP2C8 / CYP2C9
	Furosemid	CYP2C9
Leberfunktionsstörung (2)	Cotrimoxazol	NAT2
	Glibenclamid	CYP2C8 / CYP2C9

Repaglinide, Glimepirid, Glibenclamid, ASS, Clopidogrel und Torasemid stellten die CYP2C8- und CYP2C9-Substrate, Phenprocoumon und Furosemid die CYP2C9-Substrate dar. Diclofenac wurde als Substrat von CYP2C8, CYP2C9 und CYP2C19, Metoprolol und Propranolol wurden als Substrate von CYP2D6 und CYP2C19, Bisoprolol und Captopril als CYP2D6-Substrate und Cotrimoxazol als Substrat von NAT2 ermittelt (Tabelle 18).

#### **4.3.4.1. *UAE durch CYP2C8- und CYP2C9-Substrate und Genotypisierungsbefunde der Patienten mit UAE durch CYP2C8- und CYP2C9-Substrate***

Bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus wurden insgesamt 31 UAE, die auf CYP2C8- und CYP2C9-Substrate (Repaglinide, Glimepirid, Glibenclamid, ASS, Clopidogrel, Diclofenac und Torasemid) zurückgeführt werden können, festgestellt (Tabelle 18). Bei einer Patientin wurde ein UAE (Ulcus ventriculi), das auf zwei Substrate der untersuchten Enzyme (Diclofenac und ASS) zurückgeführt werden konnte, diagnostiziert. Durch OAD (Repaglinide, Glimepirid und Glibenclamid) wurden insgesamt 17 schwere Hypoglykämien beobachtet und bei einem Patienten wurde eine Leberfunktionsstörung nach der Einnahme von Glibenclamid diagnostiziert (Tabelle 19).

**Tabelle 19** Aufgetretene UAE durch CYP2C8- und CYP2C9-Substrate

<b><i>UAE durch CYP2C8- und CYP2C9-Substrate (n = 31)</i></b>	<b><i>UAE-assoziierte CYP2C8- und CYP2C9-Substrate (wie oft verdächtigt)</i></b>
schwere Hypoglykämie (17)	Repaglinide (3)
	Glimepirid (10)
	Glibenclamid (4)
obere gastrointestinale Blutung (4)	ASS (2)
	Clopidogrel (2)
Gastritis (4) / Ulcus ventriculi (4)	ASS (4)
	Clopidogrel (2)
	Diclofenac (3)
Hypokaliämie (1)	Torasemid (1)
Leberfunktionsstörung (1)	Glibenclamid (1)



ASS wurde bei der Auslösung von zwei oberen gastrointestinalen Blutungen, zwei Gastritiden und zwei Ulcera ventriculi verdächtigt. Zwei obere gastrointestinale Blutungen, eine Gastritis und ein Ulcus ventriculi können auf die Einnahme vom Clopidogrel zurückgeführt werden. Diclofenac kam bei der Auslösung von einer Gastritis und zwei Ulcera ventriculi in Frage. Torasemid wurde bei der Auslösung einer Hypokaliämie bei einem Patienten verdächtigt.

6 von 31 Patienten mit Diabetes mellitus, die UAE durch CYP2C8-Substrate erlitten haben, wurden als heterozygote Defektallelträger (CYP2C8\*1/\*3), die die IM repräsentieren und ein Patient als Träger des homozygot mutanten Genotyps CYP2C8\*3/\*3, der als PM klassifiziert wurde, identifiziert (Tabelle 20).

**Tabelle 20** Genotypisierungsbefunde der Patienten mit UAE durch CYP2C8- und CYP2C9-Substrate

<i><b>CYP2C8- und CYP2C9-Substrate (wie oft verdächtigt)</b></i>	<i><b>CYP2C8- und CYP2C9-Genotypisierungsbefunde</b></i>
Repaglinide (3)	CYP2C8*1/*1 und CYP2C9*1/*1 (2) CYP2C8*3/*3 und CYP2C9*2/*2 (1)
Glimepirid (10)	CYP2C8*1/*1 und CYP2C9*1/*1 (4) CYP2C8*1/*1 und CYP2C9*1/*3 (1) CYP2C8*1/*3 und CYP2C9*1/*2 (5)
Glibenclamid (5)	CYP2C8*1/*1 und CYP2C9*1/*1 (5)
ASS (6)	CYP2C8*1/*1 und CYP2C9*1/*1 (5) CYP2C8*1/*3 und CYP2C9*1/*2 (1)
Clopidogrel (4)	CYP2C8*1/*1 und CYP2C9*1/*1 (3) CYP2C8*1/*1 und CYP2C9*1/*2 (1)
Diclofenac (3)	CYP2C8*1/*1 und CYP2C9*1/*1 und CYP2C19 *1/*1 (2) CYP2C8*1/*1 und CYP2C9*1/*1 und CYP2C19 *1/*2 (1)
Torasemid (1)	CYP2C8*1/*1 und CYP2C9*1/*1 (1)

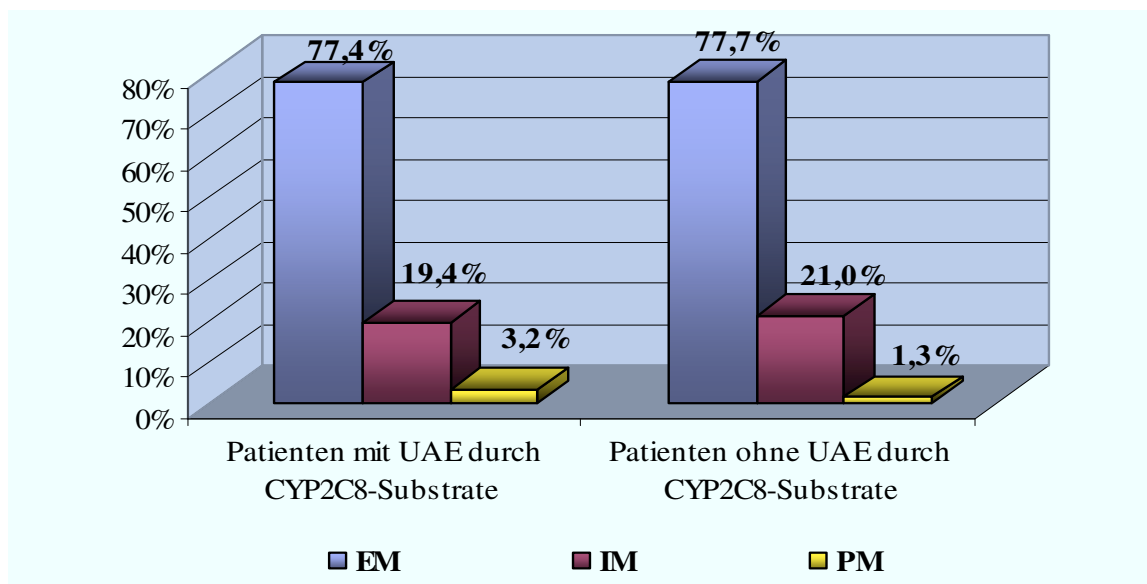
Die Genotypisierungsbefunde der Patienten, die UAE durch CYP2C8-Substrate erlitten haben, wurden mit den Genotypisierungsbefunden der erfassten Patienten, bei denen keine UAE durch CYP2C8-Substrate bekannt waren, verglichen (Tabelle 21).

Patienten mit UAE durch CYP2C8-Substrate waren häufiger homozygote Defektallelträger (CYP2C8\*3/\*3) als Patienten, die keine UAE durch CYP2C8-Substrate erlitten haben (3,2 % vs. 1,3 %). Der Unterschied war jedoch ohne statistische Signifikanz ( $p = 0,707$ ). Das Defektallel CYP2C8\*3 kam in der betrachteten Patientengruppe mit UAE durch CYP2C8-Substrate etwas häufiger vor (25,8 % vs. 23,7 %).

**Tabelle 21** Häufigkeiten der CYP2C8-Genotypen (Allel CYP2C8\*3) bei Patienten mit und ohne UAE durch CYP2C8-Substrate

<i>CYP2C8-Genotyp</i>	<i>Patienten mit UAE durch CYP2C8-Substrate (n=31)</i>	<i>Patienten ohne UAE durch CYP2C8-Substrate (n=367)</i>
CYP2C8*1/*1	77,4 % (24)	77,7 % (285)
CYP2C8*1/*3	19,4 % (6)	21,0 % (77)
CYP2C8*3/*3	3,2 % (1)	1,3 % (5)

Das Verteilungsmuster der aus den Genotypen abgeleiteten Phänotypen war bei Patienten mit und ohne UAE durch CYP2C8-Substrate vergleichbar (Abbildung 10). Die Unterschiede waren statistisch nicht signifikant ( $p = 0,707$ ).



**Abbildung 10** Anteil der abgeleiteten CYP2C8-Phänotypen bei Patienten mit und ohne UAE durch CYP2C8-Substrate

#### 4.3.4.2. *UAE durch CYP2C9-Substrate und Genotypisierungsbefunde der Patienten mit UAE durch CYP2C9-Substrate*

Zusätzlich zu den o. g. UAE durch CYP2C8- und CYP2C9-Substrate kamen noch 10 UAE dazu, die durch CYP2C9-Substrate Phenprocoumon und Furosemid ausgelöst wurden. Phenprocoumon wurde bei der Verursachung von sieben oberen gastrointestinalen Blutungen und zwei Fällen von Epistaxis verdächtigt (Tabelle 21). Bei einem Patienten bestand ein wahrscheinlicher Zusammenhang zwischen der Einnahme von Furosemid und einer aufgetretenen Hypokaliämie.

Bei 39 aus 41 Patienten (95,1 %) mit UAE durch CYP2C9-Substrate wurden die Genotypen CYP2C9\*1/\*1, CYP2C9\*1/\*2 und CYP2C9\*2/\*2, die EM kodieren, festgestellt (Tabelle 22). Der Genotyp CYP2C9\*1/\*3, aus dem sich der Phänotyp des IMs ableitet, wurde bei 2 Patienten mit UAE durch CYP2C9-Substrate nachgewiesen.

**Tabelle 22** Aufgetretene UAE durch CYP2C9-Substrate

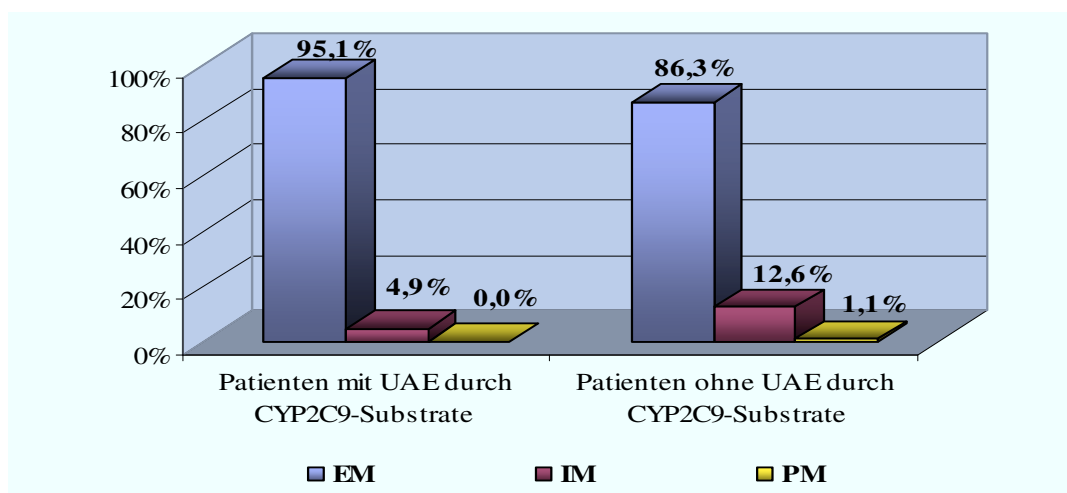
<i>UAE durch CYP2C9-Substrate (n = 10)</i>	<i>UAE-assoziierte CYP2C9-Substrate (wie oft verdächtigt)</i>	<i>CYP2C9- Genotypisierungsbefunde</i>
- obere gastrointestinale Blutung (7) - Epistaxis (2)	Phenprocoumon (9)	CYP2C9*1/*1 (3) CYP2C9*1/*2 (5) CYP2C9*1/*3 (1)
Hypokaliämie (1)	Furosemid (1)	CYP2C9*1/*1 (1)

Nach dem Vergleich der Genotypisierungsbefunde der Patienten, die UAE durch CYP2C9-Substrate erlitten haben, mit den Genotypisierungsbefunden der erfassten Patienten, die keine UAE durch CYP2C9-Substrate erlitten haben, wurden folgende Unterschiede festgestellt. Die Genotype CYP2C9\*1/\*2 und CYP2C9\*2/\*2 waren bei den Patienten mit UAE durch CYP2C9-Substrate häufiger (29,3 % vs. 21,3 % und 2,4 % vs. 1,4 %) und der Genotyp CYP2C9\*1/\*3 seltener (4,9 % vs. 10,6 %) als bei den Patienten ohne UAE durch CYP2C9-Substrate vertreten (Tabelle 23). Die festgestellten Häufigkeitsunterschiede waren jedoch ohne statistische Signifikanz (p = 0,880). Die Genotypen CYP2C9\*2/\*3 und CYP2C9\*3/\*3 konnten bei den Patienten mit UAE durch CYP2C9-Substrate nicht festgestellt werden.

**Tabelle 23** Häufigkeiten der CYP2C9-Genotypen (Allele CYP2C9\*2 und CYP2C9\*3) bei Patienten mit und ohne UAE durch CYP2C9-Substrate

<i>CYP2C9-Genotyp</i>	<i>Patienten mit UAE durch CYP2C9-Substrate (n = 41)</i>	<i>Patienten ohne UAE durch CYP2C9-Substrate (n=357)</i>
CYP2C9*1/*1	63,4 % (26)	63,6 % (227)
CYP2C9*1/*2	29,3 % (12)	21,3 % (76)
CYP2C9*2/*2	2,4 % (1)	1,4 % (5)
<b>Summe EM</b>	<b>95,1 % (39)</b>	<b>86,3 % (308)</b>
CYP2C9*1/*3	4,9 % (2)	10,6 % (38)
CYP2C9*2/*3	-	2,0 % (7)
<b>Summe IM</b>	<b>4,9 % (2)</b>	<b>12,6 % (45)</b>
CYP2C9*3/*3	-	1,1 % (4)
<b>Summe PM</b>	<b>-</b>	<b>1,1 % (4)</b>

Phänotypisch waren die IM und PM häufiger bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus ohne UAE durch CYP2C9-Substrate festgestellt. Die Unterschiede waren statistisch nicht signifikant ( $p = 0,880$ ) (Abbildung 11).



**Abbildung 11** Anteil der abgeleiteten CYP2C9-Phänotypen bei Patienten mit und ohne UAE durch CYP2C9-Substrate

Das Defektallel CYP2C9\*2 kam in der betrachteten Patientengruppe mit UAE durch CYP2C9-Substrate häufiger vor (17,0 % vs. 13,0 %). Die Allelfrequenz von CYP2C9\*3 trat bei den Patienten mit UAE durch CYP2C9-Substrate wesentlich seltener auf als bei den Patienten ohne UAE durch CYP2C9-Substrate (2,4 % vs. 7,4 %).

#### 4.3.4.3. *UAE durch CYP2C19-Substrate und Genotypisierungsbefunde der Patienten mit UAE durch CYP2C19-Substrate*

CYP2C19-Substrate wurden bei der Auslösung von insgesamt 15 UAE verdächtigt (Tabelle 24). Das betraf drei Störungen des Verdauungstraktes durch Diclofenac, zwei Bradykardien durch Metoprolol und insgesamt zehn schweren Hypoglykämien durch Metoprolol und Propranolol als interagierende Medikation.

**Tabelle 24** Aufgetretene UAE durch CYP2C19-Substrate

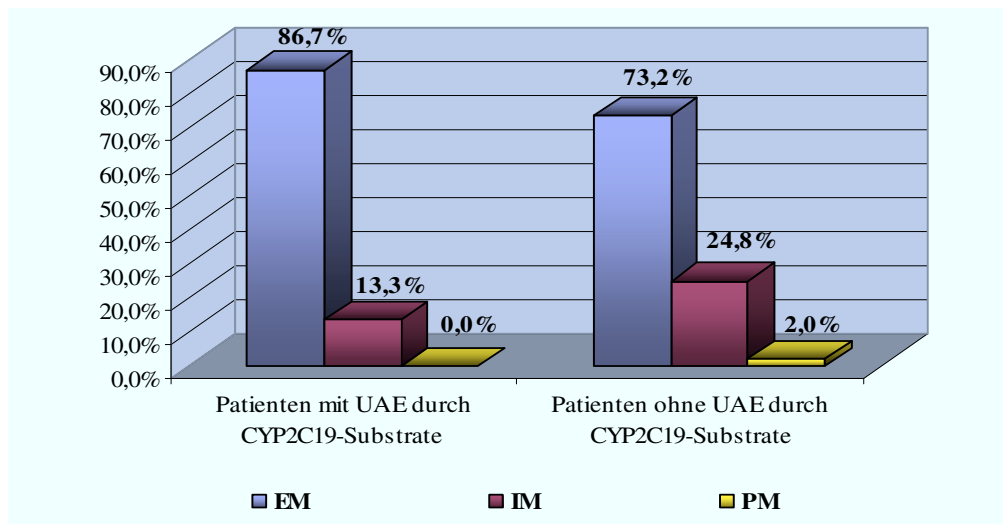
<i>UAE-Bezeichnung / Anzahl der UAE-Fälle (n = 15)</i>	<i>UAE-assoziierte CYP2C19-Substrate (wie oft verdächtigt)</i>	<i>CYP2C19-Genotypisierungsbefunde</i>
Gastritis (1) Ulcus ventriculi (2)	Diclofenac (3)	CYP2C19*1/*1 (2) CYP2C19*1/*2 (1)
Bradykardie (2)	Metoprolol (2)	CYP2C19*1/*1 (2)
schwere Hypoglykämien (10)	Metoprolol (8)	CYP2C19 *1/*1 (8)
	Propranolol (2)	CYP2C19 *1/*1 (1) CYP2C19 *1/*2 (1)

Zwei von 15 Patienten mit UAE durch CYP2C19-Substrate waren Träger des heterozygoten mutanten Genotyps CYP2C19\*1/\*2 (Tabelle 25), der als IM klassifiziert wurde.

**Tabelle 25** Häufigkeiten der CYP2C19-Genotypen (Allel CYP2C19\*2) bei Patienten mit und ohne UAE durch CYP2C19-Substrate

<i>CYP2C19-Genotyp</i>	<i>Patienten mit UAE durch CYP2C19-Substrate (n = 15)</i>	<i>Patienten ohne UAE durch CYP2C19-Substrate (n=383)</i>
CYP2C19*1/*1	13 (86,7 %)	280 (73,2 %)
CYP2C19*1/*2	2 (13,3 %)	95 (24,8 %)
CYP2C19*2/*2	-	8 (2,0 %)

Phänotypisch gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Patienten mit und ohne UAE durch CYP2C19-Substrate (p = 0,888) (Abbildung 12).



**Abbildung 12** Anteil der abgeleiteten CYP2C19-Phänotypen bei Patienten mit und ohne UAE durch CYP2C19-Substrate

Das Defektallel CYP2C19\*2 kam bei den Patienten mit UAE durch CYP2C19-Substrate etwas seltener vor im Vergleich zu den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus ohne UAE durch CYP2C19-Substrate (6,6 % vs.14,4 %).

#### 4.3.4.4. *UAE durch CYP2D6-Substrate und Genotypisierungsbefunde der Patienten mit UAE durch CYP2D6-Substrate*

Durch CYP2D6-Substrate Metoprolol, Bisoprolol, Captopril und Propranolol wurden drei Bradykardien und 13 schweren Hypoglykämien (27,1 % aller UAE) ausgelöst (Tabelle 26).

**Tabelle 26** Aufgetretene UAE durch CYP2D6-Substrate

<i>UAE-Bezeichnung / Anzahl der UAE-Fälle (n = 16)</i>	<i>UAE-assoziierte CYP2D6-Substrate (wie oft verdächtigt)</i>	<i>CYP2D6-Genotypisierungsbefunde</i>
Bradykardie (3)	Metoprolol (2)	CYP2D6 *3/*4 (1) und CYP2D6 *1/*4 (1)
	Bisoprolol (1)	CYP2D6 *1/*4 (1)
schwere Hypoglykämien (13)	Bisoprolol (2)	CYP2D6*1/*4 (1) und CYP2D6*1/*1 (1)
	Captopril (2)	CYP2D6*1/*4 (1) und CYP2D6*1/*6 (1)
	Metoprolol (8)	CYP2D6*1/*4 (4) und CYP2D6*1/*1 (4)
	Propranolol (2)	CYP2D6*1/*6 (1) und CYP2D6*1/*1 (1)

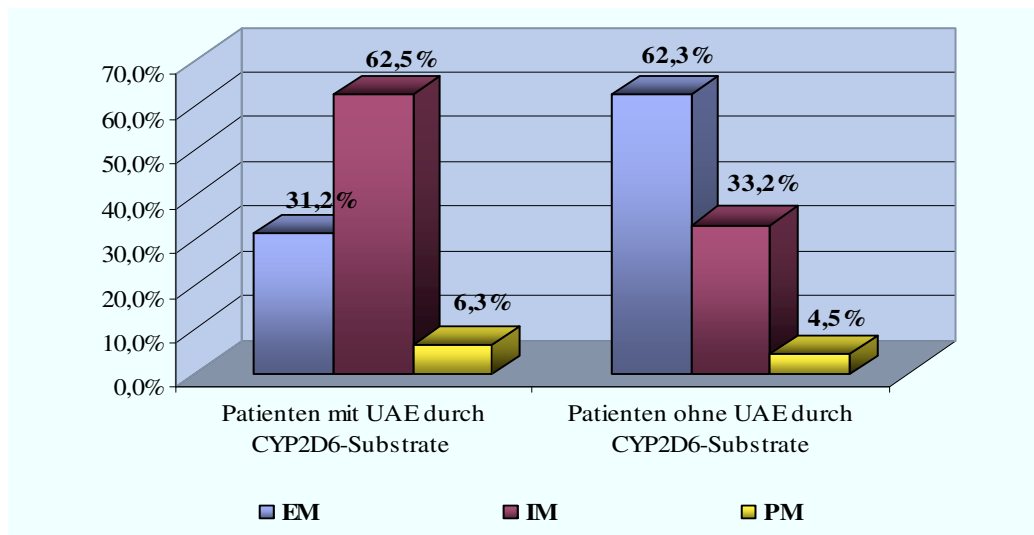
11 von 16 Patienten (68,7 %), die UAE durch CYP2D6 erlitten haben, wurden als Defektallelträger ermittelt. Eine Patientin der betrachteten 11 Patienten mit UAE durch CYP2D6-Substrate wurde als PM und 10 Patienten wurden als IM identifiziert (Tabelle 26).

Beim Vergleich der Genotypisierungsbefunde der Patienten mit und ohne UAE durch CYP2D6-Substrate haben wir festgestellt, dass der Genotyp CYP2D6\*1/\*1 seltener (31,2 % vs. 62,3 %) und die Genotype CYP2D6\*1/\*4 und CYP2D6\*1/\*6 häufiger (50,0 % vs. 30,1 % und 12,5 % vs. 1,8 %) bei den Patienten mit UAE durch CYP2D6-Substrate als bei den Patienten ohne UAE durch CYP2D6-Substrate vertreten waren (Tabelle 27). Die festgestellten Häufigkeitsunterschiede waren jedoch statistisch nicht signifikant ( $p = 0,347$ ).

**Tabelle 27** Häufigkeiten der CYP2D6-Genotypen (Allele CYP2D6\*3, CYP2D6\*4 und CYP2D6\*6) bei Patienten mit und ohne UAE durch CYP2D6-Substrate

<i><b>CYP2D6-Genotyp</b></i>	<i><b>Patienten mit UAE durch CYP2D6-Substrate (n = 16)</b></i>	<i><b>Patienten ohne UAE durch CYP2C19-Substrate (n=382)</b></i>
CYP2D6*1/*1	31,2 % (5)	62,3 % (238)
<b>Summe EM</b>	<b>31,2 % (5)</b>	<b>62,3 % (238)</b>
CYP2D6*1/*3	-	1,3 % (5)
CYP2D6*1/*4	50,0 % (8)	30,1 % (115)
CYP2D6*1/*6	12,5 % (2)	1,8 % (7)
<b>Summe IM</b>	<b>62,5 % (8)</b>	<b>33,2 % (127)</b>
CYP2D6*3/*4	6,3 % (1)	0,3 % (1)
CYP2D6*4/*4	-	4,2 % (16)
<b>Summe PM</b>	<b>6,3 % (1)</b>	<b>4,5 % (17)</b>

Bei den Patienten, deren UAE auf CYP2D6-Substrate zurückzuführen sind, deutete sich eine überdurchschnittliche Häufung der IM an (62,5 % vs. 33,2 %), was jedoch statistisch nicht abgesichert werden kann ( $p = 0,347$ ) (Abbildung 13).



**Abbildung 13** Anteil der abgeleiteten CYP2D6-Phänotypen bei Patienten mit und ohne UAE durch CYP2D6-Substrate

Die Allelfrequenzen für CYP2D6\*3 (3,1 % vs. 0,7 %), CYP2D6\*4 (28,1 % vs. 19,3 %) und CYP2D6\*6 (6,2 % vs. 0,9 %) lagen bei Patienten mit UAE durch CYP2D6-Substrate höher als bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus ohne UAE durch CYP2D6-Substrate.

#### 4.3.4.5. *UAE durch NAT2-Substrate und Genotypisierungsbefunde der Patienten mit UAE durch NAT2-Substrate*

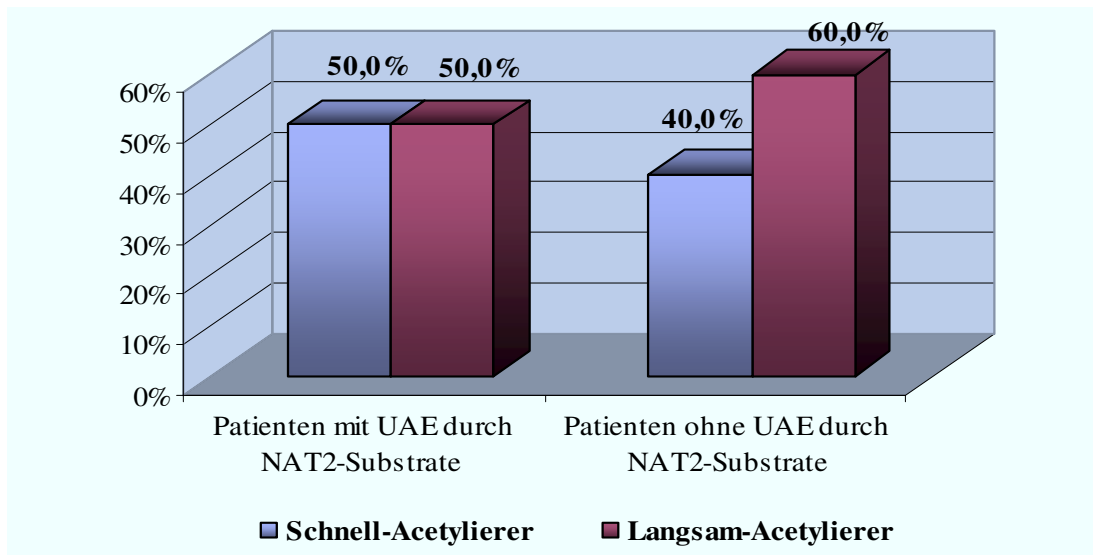
Bei zwei Patienten (3,4 % aller UAE-Patienten) konnten zwei UAE (Enterocolitis und Leberfunktionsstörung) auf das NAT2-Substrat Sulfamethoxazol (Trimethoprim/Sulfamethoxazol als Cotrimoxazol) zurückgeführt werden (Tabelle 28).

**Tabelle 28** Aufgetretene UAE durch NAT2-Substrate

<i>UAE-Bezeichnung / Anzahl der UAE-Fälle (n = 2)</i>	<i>UAE-assoziierte NAT2-Substrate (wie oft verdächtigt)</i>	<i>NAT2-Genotypisierungsbefunde</i>
Enterocolitis (1)	Cotrimoxazol (1)	4/6A
Leberfunktionsstörung (1)	Cotrimoxazol (1)	5B/5B

Einen Patienten mit dem 5B/5B NAT2-Genotyp haben wir als langsamen Acetylierer und einen Patienten mit dem 4/6A NAT2-Genotyp als schnellen Acetylierer klassifiziert (Abbildung 14).



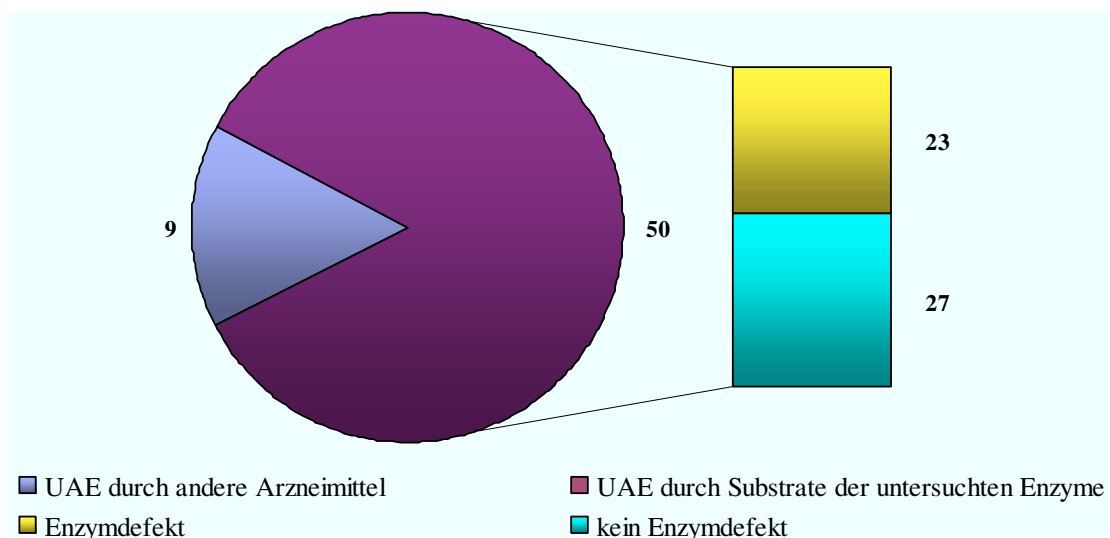


**Abbildung 14** Anteil der abgeleiteten NAT2-Phänotypen bei Patienten mit und ohne UAE durch NAT2-Substrate

Die ermittelten Häufigkeitsunterschiede zwischen den Patienten mit und ohne UAE durch NAT2-Substrate waren ohne statistische Signifikanz ( $p = 0,443$ ).

#### 4.3.5. Anteil der auf genetisch bedingte Metabolisierungsschwäche zurückgeführten UAE

Die als Enzymsubstrate ermittelten Arzneimittel ( $n = 16$ ) wurden in der Auslösung von 50 UAE (84,7 % aller erfassten UAE) bei 50 Patienten verdächtigt (Abbildung 15).



**Abbildung 15** Anteil der von den Substraten der untersuchten Enzyme ausgelösten UAE (links), davon mit genetisch bedingter Metabolisierungsschwäche (rechts)

Bei 23 Patienten (46,0 % der o. g. 50 Patienten mit UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme) wurde eine genetisch bedingte Metabolisierungsschwäche anhand der Genotypisierungsbefunde festgestellt (Tabelle 30 und Abbildung 15). Dies betraf zu 100 % die Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2.

**Tabelle 30** Anteil der auf genetisch bedingte Metabolisierungsschwäche zurückgeführten UAE bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus

<i><b>Substrate der untersuchten Enzyme (wie oft verdächtigt)</b></i>	<i><b>Genotypisierungsbefunde der Patienten mit UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme</b></i>
<b>1. CYP2C8- und CYP2C9-Substrate</b>	<b>genetischer CYP2C8- und CYP2C9-Enzymdefekt</b>
Repaglinide (3)	CYP2C8*3/*3 (1)
Glimepirid (10)	CYP2C9*1/*3 (1) und CYP2C8*1/*3 (5)
ASS (6)	CYP2C8*1/*3 (1)
<b>2. CYP2C9-Substrate</b>	<b>genetischer CYP2C9-Enzymdefekt</b>
Phenprocoumon (9)	CYP2C9*1/*3 (1)
<b>3. CYP2C19-Substrate</b>	<b>genetischer CYP2C19-Enzymdefekt</b>
Diclofenac (3)	CYP2C19*1/*2 (1)
Propranolol (1)	CYP2C19 *1/*2 (1)
<b>4. CYP2D6-Substrate</b>	<b>genetischer CYP2D6-Enzymdefekt</b>
Metoprolol (6)	CYP2D6 *3/*4 (1) und CYP2D6 *1/*4 (5)
Bisoprolol (2)	CYP2D6 *1/*4 (2)
Captopril (2)	CYP2D6*1/*4 (1) und CYP2D6*1/*6 (1)
Propranolol (1)	CYP2D6*1/*6 (1)
<b>5. NAT2-Substrate</b>	<b>genetischer NAT2-Enzymdefekt</b>
Cotrimoxazol (2)	5B/5B (1)

38,9 % aller im Rahmen unserer Untersuchung erfassten UAE konnten auf einen genetischen Enzymdefekt zurückgeführt werden (Abbildung 15).

## 5. *Diskussion*

### 5.1. *UAE- und Arzneimittelinteraktionenproblematik*

Die interindividuelle Arzneimittelwirkung unterliegt einer erheblichen Variabilität. Die Ursachen hierfür sind vielfältig und basieren auf pathophysiologischen Faktoren und Umweltinteraktionen sowie auch genetischen Merkmalen. Ursächlich werden verschiedene Faktoren, wie hohes Lebensalter, weibliches Geschlecht, Ernährungsverhalten, Körpergewicht, Genussmittel, Nieren- und Leberfunktion, Grund- und Begleiterkrankungen, medikamentöse Therapie und ggf. Polymedikation, diskutiert (Mannesse et al. 2000, Pouyanne et al. 2000, Chan et al. 2001, Drici und Clement 2001). Patienten mit Diabetes mellitus gehören aufgrund der Anzahl der diabetesbedingten Begleit- bzw. Folgeerkrankungen und einer Vielzahl gleichzeitig eingenommener Medikamente zur Risikogruppe für UAE und weisen ein höheres Vorkommen von UAE als Patienten ohne Diabetes mellitus, besonders beim Vorhandensein einer diabetischen Nephropathie mit eingeschränkter Nierenfunktion, auf (Mahlhotra et al. 2001, Zitzmann 2002, Schweinitz 2003, Maier 2004).

Die Problematik des Auftretens von UAE ist längst bekannt. Bei der Betrachtung von UAE in der Arzneimitteltherapie müssen auch Arzneimittelinteraktionen zwischen unterschiedlichen, gleichzeitig applizierten Pharmaka berücksichtigt werden. Arzneimittelinteraktionen umfassen alle Teilprozesse der pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Phase. Neben individuellen, den Patienten betreffenden Daten, wie Alter (Jansen 2003), Vorerkrankungen (verzögerte Elimination bestimmter Arzneistoffe bei Niereninsuffizienz) (Sica 2004) oder genetisch determinierten interindividuellen Unterschieden im Arzneimittelstoffwechsel (Cascorbi 2002), kann die gleichzeitige Gabe mehrerer Arzneistoffe alle Teilprozesse der Pharmakokinetik damit die Plasmakonzentration des Pharmakons wesentlich beeinflussen.

Pharmakodynamische Arzneimittelinteraktionen können erwartet werden, wenn Wirkstoffe an einem Rezeptor, einem Erfolgsorgan oder einem Regelkreis synergistisch oder antagonistisch wirken. Diese Interaktionen lassen sich aufgrund der bekannten Wirkungen der Arzneistoffe meistens gut abschätzen und können daher auch zur Verbesserung einer Pharmakotherapie bewusst herbeigeführt werden. Beispiele für solche positiven Auswirkungen finden sich unter anderem in der Kombinationstherapie bei arterieller Hypertonie.

Durch den gleichzeitigen Einsatz verschiedener blutdrucksenkender Medikamente lässt sich der arterielle Hypertonus effektiver behandeln (Ruzicka und Leenen 2001). Da die meisten Arzneimittelinteraktionen bekannt sind, lassen sie sich eher vorhersagen und vermeiden als andere UAW (Johnsen et al. 1999).

Dem gegenüber kann eine pharmakodynamische Interaktion auch unerwünschte Effekte nach sich ziehen. Besonderes Augenmerk ist im Bezug auf das Auftreten von Arzneimittelinteraktionen auf ältere Patienten zu richten. Da diese Patienten bis zu dreimal so viele Arzneimittel wie jüngere Patienten, hauptsächlich bedingt durch die höhere Prävalenz chronischer Erkrankungen (Monane et al. 1997, Herrlinger et al. 2001), einnehmen, ist bei ihnen mit einem höheren Risiko von UAE aufgrund von Interaktionen zu rechnen.

Individuelle Unterschiede in der Wirkung und Nebenwirkung von Medikamenten können unter anderem auch durch individuelle Variationen in den genetischen Eigenschaften, d. h. durch genetische Polymorphismen, bedingt sein. Diese erblichen Polymorphismen finden sich in Genen, die die Enzyme des Arzneistoffmetabolismus und des Arzneistofftransportes kodieren. Sie können die Wirkung von Arzneimitteln von der Absorption bis zur vollständigen Elimination beeinflussen (Evans und McLeod 2003), was von einer Unwirksamkeit bis hin zu schweren überdosierungsbedingten Nebenwirkungen reichen kann. Genetische Variabilität kann somit Auswirkungen auf die Effektivität einer Arzneimitteltherapie haben. Genetische Variabilität ist inzwischen auf allen Ebenen der Pharmakokinetik wie Absorption, Metabolismus und Exkretion, wie auch der Pharmakodynamik (Rezeptoren, Signaltransduktion) bekannt.

Besonders die Identifizierung von erblichen Polymorphismen in Genen des Cytochrom-P450-Systems könnte vieles zur Erklärung der individuell unterschiedlichen Pharmakokinetik von Arzneimitteln beitragen. Mit der Entwicklung molekularbiologischer Verfahren wie der PCR, die mittlerweile in vielen Labors etabliert ist, stieg das Interesse an der Erforschung genetischer Ursachen beim Auftreten von UAE. Einige Autoren haben geschätzt, dass 10 - 20 % der UAE durch eine Genotypisierung vor Beginn der Pharmakotherapie vermieden werden könnten (Ingelman-Sundberg 2001). Bisher liegen jedoch nur vereinzelnde Studien vor, die den tatsächlichen Beitrag genetischer Faktoren beim Auftreten von UAE besonders bei bestimmten Patientengruppen (z. B. mit häufigen chronischen Erkrankungen, zu denen auch Diabetes mellitus zählt) untersucht haben.

## 5.2. Genotypisierungsbefunde der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus hinsichtlich der untersuchten Enzyme

Unter Berücksichtigung der Untersuchungen von Holstein et al. (2005) und von Kirchheiner und Brockmöller (2005) in einer kaukasischen Population und der Vermutung, dass Patienten mit Diabetes mellitus eine höhere Prävalenz der langsamen Metabolisierer im Vergleich zur gesunden kaukasischen Bevölkerung aufweisen, haben wir die Häufigkeit wichtiger genetischer Enzym polymorphismen CYP2C8 (Allel CYP2C8\*3), CYP2C9 (Allele CYP2C9\*2 und CYP2C9\*3), CYP2C19 (Allel CYP2C19\*2), CYP2D6 (Allele CYP2D6\*3, CYP2D6\*4 und CYP2D6\*6) sowie NAT2 ermittelt.

Die erfassten Patienten mit Diabetes mellitus hatten in Relation zu populationsbezogenen, nicht nach Diabetes mellitus spezifizierten Genotypisierungen vergleichbare Allelfrequenzen für die untersuchten Mutationsallele des CYP-Systems und NAT2. Somit konnte unsere Vermutung über die erhöhte Häufigkeit der langsamen Metabolisierer bei den Patienten mit Diabetes mellitus im Vergleich zur gesunden kaukasischen Bevölkerung nicht bestätigt werden.

Die Genotypisierung vom CYP2C8\*3 als den häufigsten CYP2C8-Polymorphismus bei Kaukasiern ergab die Häufigkeit homozygoter genetischer Variante CYP2C8\*3/\*3 von 1,5 %, was der Häufigkeit der Variante von 1,7 % in der kaukasischen Bevölkerung entsprach (Kirchheiner 2003). Die ermittelte Allelfrequenz für CYP2C8\*3 ordnete sich mit 11,9 % in die in der Literatur angegebenen Daten mit 13 % ein (Kirchheiner 2003).

CYP2C9 stellt einen der am besten untersuchten Vertreter der CYP2C Subfamilie dar. Nur zwei Allelvarianten CYP2C9\*2 und CYP2C9\*3 kommen bei Kaukasiern häufig vor (Ingelman-Sundberg 2001) und wurden deshalb in der vorliegenden Arbeit betrachtet.

Da der Genotyp CYP2C9\*3/\*3 mit einer auf die Hälfte oder noch weniger reduzierten Clearance für alle untersuchten CYP2C9-Substrate (ausgenommen Diclofenac und Phenprocoumon, die in vivo nur zu einem geringen Anteil über CYP2C9 metabolisiert werden) verknüpft ist, haben wir ihn in der vorliegenden Arbeit dem Phänotyp des CYP2C9-Langsammetabolisierers zugrunde gelegt.

Die Häufigkeitsverteilung der detektierten CYP2C9-Allele und CYP2C9-Genotypen unter 398 untersuchten Patienten mit Diabetes mellitus unterschied sich nicht signifikant von der Verteilung in der gesunden kaukasischen Bevölkerung (Lee et al. 2002, Scordo et al. 2004, Kirchheiner und Brockmöller 2005). Die in der untersuchten Patientengruppe mit Diabetes mellitus ermittelten Allelfrequenzen betrugen 13,4 % für CYP2C9\*2 und 6,9 % für CYP2C9\*3, was den Allelfrequenzen bei Kaukasiern für CYP2C9\*2 bei 11 % und für CYP2C9\*3 bei 7 % (Kirchheiner und Brockmöller 2005) entsprach.

Die Häufigkeitsverteilung der CYP2C19-Genotypen unter 398 erfassten Patienten mit Diabetes mellitus entsprach der Normalverteilung in der kaukasischen Bevölkerung (Ferguson et al. 1998, Xie et al. 1999). Die drei ermittelten CYP2C19-Genotypen zeigten keine signifikante Abweichung von den Ergebnissen der Genotypisierung in der Arbeit von Xie et al. (1999) (CYP2C19\*1/\*1-Genotyp 73,6 % vs. 73,0 %, CYP2C19\*1/\*2-Genotyp 24,4 % vs. 26,0 % und CYP2C19\*2/\*2-Genotyp 2,0 % vs. 2,1 %).

In unserer Arbeit wurden unter 398 erfassten Patienten mit Diabetes mellitus keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich der Anzahl der detektierten CYP2D6-Allele und der Genotypen im Vergleich zur kaukasischen Bevölkerung festgestellt. Die Gruppe der langsamen Metabolisierer (PM) erreichte eine Häufigkeit von 4,5 %, was sich nicht wesentlich von der errechneten Häufigkeit der PM von CYP2D6 mit 7,24 % (5 - 10 %) in der Arbeit von Sachse et al. (1997) unterschied. Auch die Frequenzen der Allele CYP2D6\*3 (0,9 % vs. 1,3 %), CYP2D6\*4 (19,7 % vs. 20,0 %) und CYP2D6\*6 (1,1 % vs. 1,0 %), entsprachen der Verteilung in der kaukasischen Bevölkerung (Sachse et al. 1997, Ingelman-Sundberg et al. 1999).

Die Häufigkeit eines Langsam-Acetylierer-Genotyps von NAT2 entsprach mit 60,0 % der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus ebenfalls der ermittelten Häufigkeiten der nicht nach der Diagnose Diabetes mellitus spezifizierten kaukasischen Patientenpopulation. Cascorbi und Mitarbeiter haben festgestellt, dass mehr als die Hälfte der kaukasischen Bevölkerung eine reduzierte Aktivität der NAT2 aufweist.

Die Häufigkeit der NAT2-Allele bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus war auch mit den von Cascorbi und Mitarbeiter ermittelten Häufigkeiten vergleichbar: z. B. NAT2\*5B (41,8 % vs. 41,0 %) und NAT2\*6A (28,1 % vs. 28,0 %), die für einen langsamen Acetyliererstatus verantwortlich sind sowie das Wildtyp-Allel NAT2\*4 (22,8 % vs. 23,0 %), welches ein Schnell-Acetylierer-Allel ist (Cascorbi et al. 1999).

Beim Vergleichen der Genotypisierungsbefunde hinsichtlich der untersuchten Enzyme des CYP-Systems und NAT2 zwischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 haben wir keine signifikanten Unterschiede in ihrer Häufigkeitsverteilung festgestellt. Holstein und Mitarbeiter (2005) haben die CYP2C9-Genotypisierungsbefunde der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 vorgestellt. Unsere Ergebnisse stimmen mit diesen Ergebnissen überein. Im Rahmen unserer Untersuchung haben wir festgestellt, dass die langsamen Metabolisierer für CYP2C8, CYP2C9 und CYP2D6 ausschließlich Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 waren. Diese Ergebnisse konnten wir nicht belegen und fanden auch keine Erklärung dafür, außer dass das lediglich ein Zufallsbefund war. Diese Daten sollten anhand einer größeren Anzahl der Patienten mit Diabetes mellitus überprüft werden.

### **5.3. *Patientenpopulation, UAE-Spektrum und UAE-assoziierte Arzneimittel***

Die erfassten Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 gehörten aufgrund ihres hohen Lebensalters ( $71,7 \pm 12,1$  Jahre), der Prävalenz des weiblichen Geschlechts sowie der Nierenfunktion zur typischen Risikogruppe für UAE. Eine eingeschränkte Nierenfunktion wurde häufiger bei den untersuchten Patienten ermittelt als bei der Untersuchung von Maier (2004) beschrieben wurde (77,4 % vs. 63,7 %). Wie erwartet, hatten die erfassten Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 signifikant häufiger eine eingeschränkte Nierenfunktion (78,9 % vs. 40,0 %) als Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1.

Aus den pharmakokinetischen Daten der Arzneimittel, die von den erfassten Diabetes-Patienten mit UAE eingenommen wurden, folgt, dass die verdächtigen Medikamente zum größten Teil renal ausgeschieden werden. Bei einer Einschränkung der Nierenfunktion kann es zur Kumulation des Medikaments und zum Auftreten von UAE kommen. Dies ist aber vom Metabolisierungsstatus des Patienten und der Einnahme von Substraten der metabolisierenden Enzyme unabhängig.

Nach der genauen Betrachtung der UAE-Patientengruppe haben wir keine signifikanten Unterschiede in Alter, Geschlechtsverteilung, Diabetesdauer, BMI, HbA1c, Kreatininclearance und Leberwerten im Vergleich mit den Patienten ohne UAE festgestellt.

Hinsichtlich der UAE der erfassten Patienten mit Diabetes mellitus fanden wir eine höhere Inzidenzrate im Vergleich zu den Untersuchungsergebnissen von Maier (2004) (14,8 % vs. 12,1 %), die ihre Untersuchungen ebenfalls in demselben Klinikum in Weimar durchgeführt hat. Die häufigsten diagnostizierten UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus mit einem Anteil von 50,8 % stellten die schweren Hypoglykämien dar. Hypoglykämische Zustände standen mit 42,5 % der UAE-Patienten mit Diabetes mellitus in einer Untersuchung von Maier (2004) und mit 38,1 % in einer Untersuchung von Schweinitz (2004) auch im Vordergrund. Die von Schweinitz analysierten Daten stammen aus dem gleichen Projekt zur Erfassung von UAE aber aus einer anderen Patientenpopulation. Die arzneimittelinduzierten Hypoglykämien wurden in einigen Studien mit 9,5 - 30,8 % der UAE registriert (Mahlhotra et al. 2001, Reimann et al. 2001). Somit wurden die im Rahmen unserer Untersuchung erfassten schweren arzneimittelinduzierten Hypoglykämien häufiger ermittelt als in der Literatur angegeben wurde.

Die zweithäufigsten UAE (20,3 %) wurden durch Blutungen (obere gastrointestinale Blutungen und Epistaxis) repräsentiert, was unwesentlich häufiger als bei der Untersuchung von Schweinitz (2004) mit 17,2 % ausfiel. Störungen des Verdauungstraktes (Ulcus ventriculi, Gastritis, Enterocolitis) wurden als die dritthäufigsten UAE (15,3 %) ermittelt, was den Ergebnissen von Maier (2004) mit einer Häufigkeit von 14,2 % entsprach. Schweinitz (2004) hat Störungen des Verdauungstraktes bei 37,9 % aller hospitalisierten Patienten mit Diabetes mellitus, die UAE erlitten haben, festgestellt (Schweinitz 2004). Bradykardien wurden mit fast gleicher Häufigkeit wie in der Untersuchung von Maier (2004) ermittelt (5,1 % vs. 4,2 %). Somit entsprach das UAE-Spektrum bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus mit der Ausnahme von schweren Hypoglykämien, die häufiger festgestellt wurden, dem in der Untersuchung von Maier (2004) ermittelten UAE-Spektrum der Patienten mit Diabetes mellitus.

Als Auslöser von UAE bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus kamen 20 Arzneimittel in Betracht. OAD,  $\beta$ -Blocker, ACE-Hemmer und Insulin wurden am häufigsten verdächtigt, gefolgt von Antikoagulantia, Thrombozytenaggregationshemmern, NSAR, Diuretika, Antiinfektiva sowie Digitalis-Präparaten. 16 UAE-assoziierten Arzneimittel (80,0 %) wurden als Substrate der untersuchten Enzyme ermittelt, die an der Auslösung von 50 UAE (84,7 % aller erfassten UAE) beteiligt waren. In der Untersuchung von Buchardt (2004) wurden 27,4 % der verdächtigen Medikamente als Substrate der untersuchten Enzyme ermittelt, die an der Auslösung von 37 % aller diagnostizierten UAE beteiligt waren (Buchardt 2004).



Die Ursache solcher Unterschiede kann darin liegen, dass Buchardt (2004) die Patienten nicht nach der Diagnose Diabetes mellitus stratifiziert hatte, sondern alle Patienten, die wegen UAE stationär aufgenommen wurden, erfasst hatte. Im Rahmen unserer Untersuchung haben wir festgestellt, dass Patienten mit Diabetes mellitus (besonders Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2) öfter Arzneimittel einnahmen, die durch Substrate der untersuchten Enzyme metabolisiert werden und bei einer genetisch bedingten Metabolisierungsschwäche ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von UAE hatten.

Die Rolle der genetischen Polymorphismen der untersuchten Enzyme des CYP-Systems und NAT2 beim Auftreten von UAE bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus wird in den nachfolgenden Kapiteln diskutiert.

#### ***5.4. UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme des CYP-Systems und NAT2***

Die CYP2C8- und CYP2C9-Substrate (Repaglinide, Glimepirid, Glibenclamid, ASS, Clopidogrel, Diclofenac und Torasemid), die bei der Auslösung von 31 UAE sowie die CYP2C9-Substrate (Phenprocoumon und Furosemid), die bei der Auslösung von 10 UAE in Frage kamen, stellten die häufigsten UAE-assoziierten Enzymsubstrate dar.

Repaglinide, Glimepirid und Glibenclamid wurden bei der Auslösung von insgesamt 17 schweren Hypoglykämien verdächtigt. Bei einem Patienten wurde eine Leberfunktionsstörung nach der Einnahme vom Glibenclamid festgestellt. Ein wahrscheinlicher Zusammenhang bestand zwischen der Einnahme von ASS, Clopidogrel, Diclofenac und Phenprocoumon und dem Auftreten von Störungen des Verdauungstraktes (Gastritis, Ulcus ventriculi) sowie verschiedenen Blutungen bei insgesamt 22 Patienten. Zwei Patienten haben unter der Einnahme von Furosemid bzw. Torasemid eine Hypokaliämie erlitten.

Nach der genauen Betrachtung der Genotypisierungsbefunde der Patienten mit UAE durch CYP2C8-Substrate haben wir festgestellt, dass Patienten mit UAE durch CYP2C8-Substrate häufiger PM waren als Patienten, die kein UAE durch CYP2C8-Substrate erlitten haben (3,2 % vs. 1,3 %).

In Bezug auf CYP2C9 haben wir entgegen unserer Erwartung ein höheres Vorkommen der EM und einen geringeres Vorkommen der PM bei den Patienten mit UAE durch CYP2C9-Substrate im Vergleich zu den Patienten, die kein UAE durch CYP2C9-Substrate erlitten haben, beobachtet. Die festgestellten Unterschiede waren jedoch ohne statistische Signifikanz.

Die Bedeutung von CYP2C8 bei der Auslösung von UAE ist noch nicht eindeutig geklärt. Die homozygote genetische Variante CYP2C8\*3/\*3 ist mit einer verringerten Enzymaktivität assoziiert (Dai et al. 2001), was ursächlich zu UAE führen könnte. Laut einigen klinischen Studien hatten aber CYP2C8\*3-Träger eine geringere Plasmakonzentration für CYP2C8-Substrate als die Träger der Wildtyp-Genotypen (Niemi et al. 2003). Die Ursache solcher Unterschiede kann darin liegen, dass ein Arzneimittel durch mehrere P450-Enzyme abgebaut werden kann und ein Zusammenhang zwischen UAE und genetischen Polymorphismen nur dann vorliegen kann, wenn das UAE-assoziierte Arzneimittel zu einem überwiegenden Teil durch das polymorphe Enzym metabolisiert wird. Da alle CYP2C8-Substrate gleichzeitig Substrate für CYP2C9 ggf. CYP2C19 waren, konnten keine Assoziationen zwischen dem CYP2C8-Genotyp und dem Auftreten von UAE gefunden werden.

Die polymorphen Enzyme CYP2C8 und CYP2C9 sind die wichtigsten Enzyme bei der Biotransformation von OAD. Bei den von Kirchheiner und Mitarbeitern getesteten OAD Glibenclamid und Nateglinid zeigte CYP2C9\*3 einen signifikanten Einfluss auf ihre Pharmakokinetik (Kirchheiner 2003 und Kirchheiner et al. 2005). Das Allel CYP2C9\*2 zeigte keinen bedeutenden Einfluss auf pharmakokinetische Parameter der o.g. OAD (Kirchheiner 2003). Die Allelvariante CYP2C9\*1/\*3 wies eine 50 % reduzierte Clearance dieser Medikamente im Vergleich zum Wildtyp auf. Die homozygote Variante (CYP2C9\*3/\*3) führte sogar zu einer 80 %-igen Reduktion der Clearance für Glibenclamid und Nateglinid. Bei Einnahme von OAD haben Patienten dieses Genotyps mit höheren Blutkonzentrationen zu rechnen, was ein erhöhtes Hypoglykämierisiko mit sich bringt (Kirchheiner 2003, Holstein et al. 2005, Kirchheiner und Brockmöller 2005). Die vorliegende Untersuchung zeigt jedoch keine Assoziationen zwischen dem CYP2C9-Genotyp und dem Auftreten von schweren Hypoglykämien bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus.

Im Rahmen unserer Untersuchung wurden neun Blutungskomplikationen einer antikoagulativen Therapie bei neun Patienten beobachtet. Kardiovaskuläre Erkrankungen, zu deren Behandlung Cumarinderivate weltweit eingesetzt werden, kommen überdurchschnittlich häufig in Kombination mit Diabetes mellitus vor. Zur oralen Antikoagulation wird in Deutschland fast ausschließlich Phenprocoumon eingesetzt. Charakteristisch für die Cumarinderivate ist eine geringe therapeutische Breite. Die antikoagulative Therapie gestaltet sich aus diesem Grund häufig schwierig und ist mit dem Risiko potenziell lebensbedrohlicher Blutungen verbunden.

Ein Zusammenhang zwischen dem genetischen Polymorphismus des CYP2C9 und der Instabilität unter Cumarintherapie ist bereits bekannt. Bei in vitro Studien, mit humanen Lebermikrosomen und rekombinanten Enzymen durchgeführt, wurde auf eine Beteiligung des CYP2C9 in der Hydroxylierung von Phenprocoumon hingewiesen (He et al. 1999, Ufer et al. 2004). Ufer und Mitarbeiter benannten 2004 in einer in vitro Studie erstmalig neben CYP2C9, CYP3A4 als das Hauptenzym für die Hydroxylierung von Phenprocoumon. Ferner scheint CYP2C8 an der Hydroxylierung von Phenprocoumon in vitro beteiligt zu sein (Ufer et al. 2004). Abgesehen von der Glukuronidierung und der renalen und biliären Ausscheidung, scheinen metabolische Wege über CYP3A4 den Effekt von CYP2C9-Polymorphismen auf die Clearance von Phenprocoumon zu verringern (Ufer et al. 2004, Ufer 2005). Walter (2007) hat im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen der Pharmakokinetik von Phenprocoumon festgestellt, dass dem CYP2C9-Genotyp nur eine moderate Bedeutung zukommt (Walter 2007).

Weiterhin existieren einige Studien, die sich mit dem Einfluss des CYP2C9-Polymorphismus auf die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Phenprocoumon auseinandergesetzt haben (Hummers-Pradier et al. 2003, Schalekamp et al. 2004, Visser et al. 2004, Daly and King 2006, Walter 2007). 2003 veröffentlichten Hummers-Pradier und Mitarbeiter eine Patientenstudie, die belegte, dass CYP2C9\*3-Allelträger, nicht jedoch CYP2C9\*2-Allelträger, unter Phenprocoumontherapie einem erhöhten Blutungsrisiko ausgesetzt sind (Hummers-Pradier et al. 2003). In der 2004 von Schalekamp und Mitarbeitern veröffentlichten Studie wurde ein erhöhtes Risiko einer Überdosierung von Phenprocoumon bei Patienten, die mindestens ein CYP2C9\*2- oder \*3-Allel aufwiesen, beschrieben (Schalekamp et al. 2004). Folglich wurde dem CYP2C9 ein Einfluss auf die Antikoagulation und somit auf die Dosierung der Cumarinderivate zugeteilt (Daly and King 2006).

Jedoch gibt es einige Autoren, die in Bezug auf Blutungsrisiken bei CYP2C9\*2- und \*3-Allelträgern unter Phenprocoumontherapie keine Unterschiede, verglichen mit Trägern des Wildtyps (CYP2C9\*1/\*1), festgestellt haben (Visser et al. 2004). Die Ergebnisse unserer Untersuchung weichen nicht von den Ergebnissen dieser Studie ab, denn zwischen dem CYP2C9-Genotyp und dem Blutungsrisiko konnten wir ebenfalls keine Assoziationen finden.

Andere Faktoren können für die Blutungskomplikationen unter Phenprocoumontherapie mitverantwortlich gemacht werden. Zu diesen Beeinflussungsfaktoren könnten eine Vitamin K-reichhaltige Ernährung, das Alter des Individuums (Loebstein et al. 2001), Medikamenteninteraktionen, unterschiedliche Dosierungsschemata sowie Unterschiede in der Qualität des Patientenmonitorings und der Patientenschulung zählen. Auch genetische Faktoren, wie z. B. Polymorphismen in der 4'-OH-Glukuronidase, sollten in die Überlegungen mit involviert werden.

ASS und Clopidogrel wurden insgesamt an der Auslösung von vier oberen gastrointestinalen Blutungen und acht Störungen des Verdauungstraktes (Gastritis und Ulcus ventriculi) sowie Furosemid und Torasemid an der Hypokaliämieauslösung verdächtigt. CYP2C8 und CYP2C9 nehmen an der Metabolisierung von diesen Medikamenten teil. Die Hauptabbauwege von ASS, Clopidogrel, Furosemid und Torasemid werden durch CYP2C8 und CYP2C9 katalysiert, weshalb die CYP2C8- und CYP2C9-Aktivität den geschwindigkeitsbestimmenden Faktor bei der Elimination darstellt (Miners et al. 1995). Dennoch konnte in der vorliegenden Untersuchung kein Zusammenhang zwischen den UAE unter ASS, Clopidogrel, Furosemid und Torasemid und dem CYP2C8- und CYP2C9-Genotyp festgestellt werden.

Diclofenac, ein Substrat für CYP2C8, CYP2C9 und CYP2C19, war an drei UAE bei drei Patienten beteiligt. Bei einem Patienten wurde eine Metabolisierungsschwäche hinsichtlich CYP2C19 festgestellt. Chauhan et al. haben eine signifikante positive Korrelation zwischen der Einnahme von Diclofenac und seiner Plasmakonzentration bei langsamen Metabolisierern von CYP2C19 beobachtet (Chauhan et al. 2008), was ursächlich zu UAE führen kann. Dennoch konnte in der vorliegenden Arbeit kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der durch Diclofenac induzierten UAE und dem CYP2C19-Genotyp gefunden werden, wofür aber die geringe Fallzahl (n = 3) verantwortlich gemacht werden kann.

Hinsichtlich CYP2C8 und CYP2C9 waren alle Patienten mit UAE durch Diclofenac Wildtyp-Allelträger. Für Diclofenac, für das die 4-Hydroxylierung als spezifisch durch CYP2C9 katalysiert beschrieben wurde (Bort 1999), konnte im Rahmen der Untersuchung an Probanden von Kirchheiner (2003) keine Abhängigkeit von CYP2C9-Polymorphismen gefunden werden (Kirchheiner 2003). Auch die Ergebnisse der Arbeit von Freytag (2007) zeigen keinerlei Auswirkungen der CYP2C9-Allele \*2 und \*3 auf den Diclofenac-Metabolismus (Freytag 2007). Eine weitere Studie von Morin und Mitarbeitern fand auch keine signifikanten Unterschiede zwischen Trägern der CYP2C9 \*1/\*1-Allelkombination im Vergleich zu CYP2C9\*1/\*2 und CYP2C9\*1/\*3 (Morin et al. 2001). Der fehlende Einfluss der CYP2C9-Aktivität auf die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Diclofenac in vivo kann eine Erklärung dafür sein, warum in der vorliegenden Arbeit kein Zusammenhang zwischen den durch Diclofenac ausgelösten UAE und dem CYP2C9-Genotyp festgestellt wurde.

Darüber hinaus fungiert CYP2C19 als alternativer Stoffwechselweg für CYP2D6-Substrate. Wir haben zwei Bradykardien und acht schwere Hypoglykämien bei der Einnahme von Metoprolol sowie zwei schwere Hypoglykämien bei der Einnahme von Propranolol, die CYP2C19- und CYP2D6 Substrate darstellen, beobachtet. Nur ein Patient war heterozygoter Allelträger für CYP2C19.

Ca. 70 % des gesamten Metabolismus von Metoprolol in vivo wird mittels des polymorphen Enzyms CYP2D6 geregelt (Johnson und Burlew 1996). Durch den Metabolismus von Metoprolol über das genetisch polymorphe CYP2D6-Enzym können Unterschiede im Therapieansprechen bei Trägern von Mutationen des CYP2D6-Gens im Vergleich zu den Trägern, die über eine normale Aktivität des CYP2D6-Enzyms verfügen, entstehen. Rau und Mitarbeiter konnten eine 3,9fach höhere Plasmakonzentration von Metoprolol bei IM im Vergleich zu EM messen (Rau et al. 2002). Daraus kann ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von UAW bei einer Therapie mit Metoprolol resultieren.

Es existieren nur wenige klinische Studien (Chou et al. 2000, Vandel et al. 1999), die einen generelleren Zusammenhang zwischen CYP2D6 und der Häufigkeit von UAW untersucht haben (Roberts et al. 2004). Rau und Mitarbeiter haben festgestellt, dass von den Patienten mit UAW 29 % keine aktiven CYP2D6-Allele besaßen (PM), was einem viermal höheren Wert (7 %) im Vergleich zur kaukasischen Bevölkerung entsprach (Rau et al. 2004). Die Studie von Grzesiak und Mitarbeitern kam zu einem ähnlichen Ergebnis (Grzesiak et al. 2003).

Wuttke und Mitarbeiter zeigten, dass von Patienten, die nach Metoprololgabe über UAW klagten, 38 % Träger defizienter Allele waren (Wuttke et al. 2002). Dieser Anteil an PM ist ca. viermal höher als das Vorkommen in der kaukasischen Bevölkerung (5 - 10 % PM unter Kaukasiern) und scheint ein Beleg für das höhere Risiko von PM zu sein, UAW zu entwickeln.

Durch CYP2D6-Substrate Metoprolol, Bisoprolol, Captopril und Propranolol wurden drei Bradykardien und 13 schwere Hypoglykämien (27,1 % aller UAE) ausgelöst. 11 von 16 Patienten (68,7 %), die UAE durch CYP2D6 erlitten haben, wurden als Defektallelträger ermittelt. Die ermittelten Häufigkeitsunterschiede waren jedoch statistisch nicht signifikant ( $p = 0,347$ ). Somit konnten wir keine Assoziationen zwischen dem CYP2D6-Genotyp und den aufgetretenen UAE feststellen.

Bei zwei Patienten konnten zwei UAE (Enterocolitis und Leberfunktionsstörung) auf das NAT2-Substrat Sulfamethoxazol zurückgeführt werden. Ein Patient war langsamer Acetylierer. Studienergebnisse zeigen, dass Langsam-Acetylierer ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von UAW unter der Sulfonamid-Therapie haben (Meisel 2002). Im Rahmen unserer Untersuchung konnte aber kein Zusammenhang zwischen dem Langsam-Acetylierer-Phänotyp und dem Auftreten von UAE festgestellt werden.

### ***5.5. Rolle und Notwendigkeit der pharmakogenetischen Diagnostik vor Beginn einer medikamentösen Therapie***

Die pharmakogenetische Diagnostik bietet die Möglichkeit, vor Beginn einer medikamentösen Therapie die Auswahl eines Medikamentes und dessen Dosierung an den individuellen Arzneistoffmetabolismus und die Besonderheiten der Krankheitsgenese anzupassen. Pharmakogenetische Untersuchungen betreffen Parameter, die altersunabhängig für Therapien mit verschiedenen Medikamentengruppen relevant sind. Dennoch ist es derzeit nicht in jedem Falle sinnvoll, eine Genotypisierung vor Beginn einer Arzneitherapie durchzuführen, sondern nur bei Therapien mit Medikamenten, die eine enge therapeutische Breite oder ein Risiko für schwere unerwünschte Arzneimittelwirkungen haben oder wenn genetische Faktoren wesentlich an der Variabilität der Pharmakokinetik und -dynamik beteiligt sind (Kirchheiner et al. 2001).

Im Rahmen unserer Untersuchung wurde bei 23 von 50 Patienten (46,0 %), die UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme erlitten haben, eine genetisch bedingte Metabolisierungsschwäche anhand der Genotypisierungsbefunde festgestellt.

Das bedeutet, dass 38,9 % aller erfassten UAE (n = 59) auf einen genetischen Enzymdefekt zurückgeführt werden können. Buchardt (2004) hat festgestellt, dass maximal 15 % der durch Enzymsubstrate ausgelösten UAE bzw. 6 % aller UAE im Zusammenhang mit einer genetisch bedingten Metabolisierungsschwäche stehen können. Bei der Untersuchung von Buchardt handelte es sich um Patienten, die nicht nach der Diagnose Diabetes mellitus stratifiziert worden waren. Somit haben wir wesentlich häufiger eine genetisch bedingte Metabolisierungsschwäche bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus, die UAE erlitten haben, im Vergleich zu den nicht nach Diagnose Diabetes mellitus spezifizierten Patienten festgestellt.

Pharmakogenetische Diagnostik (Genotypisierung) vor Beginn einer medikamentösen Therapie bei Patienten mit Diabetes mellitus halten wir für sinnvoll und notwendig, um UAE zu vermeiden.

#### ***5.6. Andere (nichtgenetische) Einflussfaktoren auf die individuellen Unterschiede in der Arzneimittelwirkung***

Genetische Faktoren sind nur ein Teil der vielen Einflussgrößen, die für individuelle Unterschiede in der Arzneimittelwirkung verantwortlich sind. Eine erhöhte Häufigkeit der UAE bei den erfassten Patienten mit Diabetes mellitus im Vergleich zu den Literaturangaben könnte epidemiologisch zu erklären sein, da unsere Patienten ein mittleres Alter von  $70,5 \pm 13,4$  Jahren und zu 77,4 % eine eingeschränkte Nierenfunktion hatten. Die Elimination von mehreren Arzneimitteln erfolgt zum überwiegenden Teil durch Metabolisierung, wie z. B. durch Hydroxylierungs- und Konjugationsreaktionen in der Leber. Nach Glukuronidierung und Sulfatierung werden die Metabolite hauptsächlich renal ausgeschieden, so dass bei eingeschränkter Nierenfunktion ein erhöhtes Risiko für UAE besteht.

Interindividuelle Unterschiede in der Wirkung einer Arzneimitteltherapie entstehen häufig durch komplexe Interaktionen zwischen Patientenfaktoren, Umwelteinflüssen und genetischer Variabilität. Sehr wichtig für den Erfolg einer Arzneitherapie ist auch die Compliance der Patienten (McDonald et al. 2002). Um eine patientenorientierte Behandlung gewährleisten zu können, müssen diese Faktoren berücksichtigt werden. Eine große Herausforderung für die Zukunft ist die Erfassung dieser kombinierten Einflüsse und multipler Genvarianten um die Arzneimittelwirkung bei einem individuellen Patienten voraussagen zu können und die Wahl und Dosierung eines Arzneimittels individuell anpassbar zu machen.

## **6. Schlussfolgerungen**

Für das Auftreten unerwünschter Arzneimittelereignisse (UAE) kommt eine Vielzahl von Risikofaktoren (Patientenfaktoren, Umwelteinflüsse und genetische Variabilität) in Betracht. Um eine patientenorientierte Behandlung gewährleisten zu können, müssen diese Faktoren berücksichtigt werden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die pharmakogenetischen Faktoren als eine von vielen möglichen Ursachen von UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus, die aufgrund der hohen Anzahl der diabetesbedingten Begleit- und Folgeerkrankungen und einer Vielzahl gleichzeitig eingenommener Medikamente zur Risikogruppe für das Auftreten von UAE gehören, untersucht.

Die berücksichtigten Cytochrome CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 sowie NAT2, die zu den wichtigsten arzneimittelmetabolisierenden Enzymen gehören, weisen aufgrund ihres Polymorphismus eine bimodale bzw. trimodale Verteilung ihrer Enzymaktivität auf.

Mittels molekularbiologischer Verfahren wie der PCR mit der Restriktionsfragmentanalyse können Menschen mit einer reduzierten oder fehlenden Enzymaktivität identifiziert werden.

Die erfassten Patienten mit Diabetes mellitus hatten in Relation zu populationsbezogenen, nicht nach Diabetes mellitus spezifizierten Genotypisierungen vergleichbare Allelfrequenzen für die untersuchten Mutationsallele des CYP-Systems und NAT2. Ihre Genotypisierungsbefunde unterschieden sich nicht signifikant in ihrer Häufigkeitsverteilung zwischen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2.

Die arzneimittelinduzierten schweren Hypoglykämien als häufigste UAE der erfassten Patienten standen im Kausalzusammenhang mit der Einnahme von OAD, ACE-Hemmer,  $\beta$ -Blocker und Insulin. Arzneimittelinteraktionen spielen bei der Auslösung von UAE eine wichtige Rolle und sollen bei der Arzneimittelverschreibung durch den behandelnden Arzt berücksichtigt werden. Bei einer Kombinationstherapie von OAD mit ACE-Hemmern bzw.  $\beta$ -Blockern sollten besonders bei bekannter Hypoglykämieeigung des Patienten engmaschige Blutzuckerkontrollen erfolgen.



84,7 % der UAE waren auf Medikamente zurückzuführen, die zu einem überwiegenden Teil durch die untersuchten Enzyme metabolisiert werden. Bei 46,0 % der Patienten, die UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme erlitten haben, wurde eine genetisch bedingte Metabolisierungsschwäche anhand der Genotypisierungsbefunde festgestellt. Dies betraf zu 100 % die Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2.

Die Genotypisierungsbefunde der Patienten mit und ohne UAE durch Substrate der untersuchten Enzyme unterschieden sich nicht signifikant.

38,9 % aller im Rahmen unserer Arbeit erfassten UAE bei Patienten mit Diabetes mellitus konnten auf einen genetischen Enzymdefekt zurückgeführt werden.

Weitere umfangreiche Patientenerfassungen im Rahmen multizentrischer Studien sind notwendig, um das Risiko der Defektallelträger unter den Patienten mit Diabetes mellitus für UAE bei verschiedenen polymorph metabolisierten Medikamenten zu ermitteln.

Durch Berücksichtigung der pharmakogenetischen Eigenschaften und Arzneimittelinteraktionen soll die medikamentöse Therapie bei Patienten mit Diabetes mellitus wirksamer und zugleich sicherer werden. Die Prävention von Hypoglykämien und anderen UAE bei diesen Patienten sollte ein Bestandteil des medizinischen Betreuungskonzeptes sein.

Die prätherapeutische Genotypisierung könnte ein erster Schritt zur individuell gestalteten medikamentösen Therapie z. B. in Wahl und Dosierung eines Arzneimittels und zum Vermeiden von UAE sein und dazu beitragen, dass verträglicher und kostengünstiger verordnet werden kann.

## 7. *Literaturverzeichnis*

- Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ and Daly AK (1999) Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 353: 717 - 719.
- Aynacioglu AS, Bozkurt A, Nacak M, Kortunay S, Tunc R, Dincel A and Kayaalp SO (2001) N-acetyltransferase polymorphism in patients with Behcet's disease. *Clin. Pharmacol* 57(9): 659 - 662.
- Bates DW, Spell N, Cullen DJ, Burdick E, Laird N, Petersen LA, Small SD, Sweitzer BJ and Leape LL (1997) The costs of adverse drug events in hospitalized patients. *J Am Med Assoc* 277: 307 - 311.
- Bégaud B, Evreux JC, Jouglard J and Lagier G (1985) Imputation of the unexpected or toxic effects of drugs. Actualization of the method used in France. *Thérapie* 40 (2): 111 - 118.
- Bertilsson L, Dahl ML, Dalen P and Al-Shurbaji A (2002) Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol* 53: 111 - 122.
- Björkman IK, Fastborn J and Schmidt IK (2002) Drug-drug interactions in the elderly. *Ann Pharmacother* 36: 1675 - 1685.
- Blum M, Demierre A, Grant DM, Heim M and Meyer UA (1991) Molecular mechanism of slow Acetylation of drugs and carcinogens in humans. *Proc Natl* 88: 5237 - 5241.
- Bort R, Mace K, Boobis A, Gomez Lechon MJ, Pfeifer A and Castell J (1999) Hepatic metabolism of diclofenac: role of human CYP in the minor oxidative pathways. *Biochem Pharmacol* 58: 787 - 96.
- Brandolese R, Scordo MG, Spina E, Gusella M and Padrini R (2001) Severe phenytoin intoxication in a subject homozygous for CYP2C9\*3. *Clin Pharmacol Ther* 70: 391 - 394.
- Brockmüller J, Kirchheiner J, Meisel CH and Roots I (2000) Pharmacogenetic diagnostics of cytochrome P450 polymorphisms in clinical drug development and in drug treatment. *Pharmacogenomics* 2: 125 - 151.
- Buchardt C (2003) Untersuchungen zum Einfluss pharmakogenetischer Faktoren auf das Auftreten unerwünschter Arzneimittelereignisse im Raum Jena und Weimar Dissertation. Jena.

- Cascorbi I, Drakoulis N, Brockmöller J, Maurer A, Sperling K and Roots I (1995) Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) mutations and their allelic linkage in unrelated Caucasian individuals: correlation with phenotypic activity. *Am J Hum Genet* 57: 581 - 592.
- Cascorbi I, Brockmöller J, Mrozikiewicz PM, Müller A and Roots I (1999) Arylamine N-acetyltransferase activity in man. *Drug Metab Rev* 31: 489 - 502.
- Cascorbi I (2002) Stand der Pharmakogenomik und deren zukünftige Rolle für die Arzneimitteltherapie. *Internist* 43: 506 - 510.
- Cockcroft DW and Gault MH (1976) Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 16: 31 - 41.
- Chan M, Nicklason F and Vial JH (2001) Adverse drug events as a cause of hospital admission in the elderly. *Intern Med J* 31: 199 - 205.
- Chauhan N, Sistonen J, Fuselli S, Rani S and Padh H (2008) Genotypic Variability of CYP2C9 and CYP2C19 in Indian Population: Correlation with Pharmacokinetic Based Phenotype. HGM 2008 HUGO's 13<sup>th</sup> Human Genome Meeting Hyderabad, India.
- Chou WH, Yan FX, De Leon J, Barnhill J, Rogers T, Cronin M, Pho M, Xiao V, Ryder TB, Liu WW, Teiling C and Wedlund PJ (2000) Extension of a pilot study: Impact from the cytochrome P450 2D6 polymorphism on outcome and costs associated with severe mental illness. *J Clin Pharmacol* 20: 246 - 251.
- Dai D, Zeldin DC, Blaisdell JA, Chanas B, Coulter SJ, Ghanayem BI and Goldstein JA (2001) Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid. *Pharmacogenetics* 11: 597 - 607.
- Daly AK, Brockmöller J, Broly F, Eichelbaum M, Evans WE, Gonzalez FJ, Huang JD, Idle JR, Ingelman-Sundberg M, Ishizaki T, Jacqz-Aigrain E, Meyer UA, Nebert DW, Steen VM, Wolf CR and Zanger UM (1996) Nomenclature for human CYP2D6 alleles. *Pharmacogenetics* 6: 193 - 201.
- Daly AK (2003) Pharmacogenetics of the major polymorphic metabolizing enzymes. *Fundam Clin Pharmacol* 17 (1): 27 - 41.
- Daly AK and King BP (2006) Contribution of CYP2C9 to variability in vitamin K antagonist metabolites. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2: 3 - 15.
- de Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA and Goldstein JA (1994) The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem* 269: 15419 - 15422.

- Desta Z, Zhao X, Shin JG and Flockhart DA (2002) Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet.* 41: 913 - 958.
- Deutsche Diabetes Gesellschaft (2002) Praxis-Leitlinien: Diabetische Nephropathie. *Diabetes und Stoffwechsel* 11 (Suppl. 2): 17 - 19.
- Dormann H, Criegee-Rieck M and Neubert A (2003) Lack of awareness of community-acquired adverse drug reactions upon hospital admission: dimensions and consequences of a dilemma. *Drug Saf* 26: 353 - 362.
- Dormann H, Neubert A and Criegee-Rieck M (2004) Readmissions and adverse drug reactions in internal medicine: the economic impact. *J Int Med* 255: 653 - 663.
- Drici MD and Clement N (2001) Is gender a risk factor for adverse drug reactions? The example of drug-induced long QT syndrom. *Drug Saf* 24: 575 - 585.
- Edwards IR and Aronson JK (2000) Adverse drug reaction: definition, diagnosis and management. *Lancet* 365: 1255 - 1259.
- Evans WE and McLeod HL (2003) Pharmacogenomics drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med* 348: 538 - 549.
- Fattinger K, Roos M, Vergeres P, Holenstein C, Kind B, Masche U, Stocker DN, Braunschweig S, Kullak-Ublick GA, Galeazzi RL, Follath F, Gasser T and Meier PJ (2000) Epidemiology of drug exposure and adverse drug reactions in two swiss departments of internal medicine. *Br J Clin Pharmacol* 49(2): 158 - 167.
- Ferguson RJ, De Morais SM, Benhamou S, Bouchardy C, Blaisdell J, Ibeanu G, Wilkinson G, Sarich TC, Wright JM, Dayer P and Goldstein JA (1998) A new genetic defect in human CYP2C19: Mutation of the initiation codon is responsible for poor metabolism of S-Mephenytoin. *JPET* 284: 356 - 361.
- Feuring M, Wehling M und Falkenstein E (2000) Beeinflussung der Arzneimittelwirkung durch Erbfaktoren und Erkrankungen, Springer-Verlag 2000: 332 - 337.
- Freytag G (2007) Die Bedeutung genetischer Polymorphismen im Enzym Cytochrom P450 2C9 für Pharmakokinetik und Wirkungen der Nichtsteroidalen Antiphlogistika Diclofenac und Ibuprofen. Dissertation. Berlin.
- Goldstein JA und de Morais SM (1994) Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily. *Pharmacogenetics* 4: 285 - 299.
- Goldstein JA (2001) Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *Br J Clin Pharmacol* 52 (4): 349 – 355.

- Grant DM, Beer M, Blum M and Meyer UA (1991) Monomorphic and polymorphic human arylamine N-acetyltransferases: a comparison of liver isozymes and expressed products of two cloned genes. *Mol. Pharmacol.* 39: 184 - 191.
- Grant DM, Hughes NC, Janezic SA, Goodfellow GH, Chen HJ, Gaedigk A, Yu VL and Grewal R (1997) Human acetyltransferase polymorphisms. *Mutat Res* 376: 61 - 70.
- Grant DM, Goodfellow GH, Sugamori KS and Durette K (2000) Pharmacogenetics of the human arylamine N-Acetyltransferases. *Pharmacology* 61: 204 - 211.
- Griese EU, Zanger UM, Brudermanns U, Gaedigk A, Mikus G, Mörike K, Stüven T and Eichelbaum M (1998) Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population. *Pharmacogenetics* 8: 15 - 26.
- Griese EU, Läßle F and Eichelbaum M (1999) Detection of CYP2C19 alleles \*1, \*2 and \*3 by multiplex polymerase chain reaction. *Pharmacogenetics* 9: 389 - 391.
- Grzesiak M, Beszlej A, Lebioda A, Jonkisz A, Dobosz T and Kiejna A (2003) Retrospective assessment of the antidepressant tolerance in the group of patients with diagnosis of depression and different CYP2D6 genotype. *Psychiatr Pol* 37 (3): 433 - 444.
- Hausmann W (2006) Auf dem Weg zur individuellen Arzneimitteltherapie. *PZ Prisma* 13 (3): 149 - 158.
- He M, Korzekwa KR, Jones JP, Rettie AE and Trager WF (1999) Structural forms of phenprocoumon and warfarin that are metabolized at the active site of CYP2C9. *Arch Biochem Biophys* 372: 16 - 28.
- Hein DW, Ferguson RJ, Doll MA, Rustan TD and Gray K (1994) Molecular genetics of human polymorphic N-acetyltransferase: enzymatic analysis of 15 recombinant wild-type, mutant, and chimeric NAT2 allozymes. *Hum Mol Genet* 3: 729 - 734.
- Hein DW, Grant DM and Sim E (2003) Arylamine N-acetyltransferase (NAT) Nomenclature. Available at: <http://www.louisville.edu/medschool/pharmacology/NAT.html>.
- Herrlinger C and Klotz U (2001) Drug mechanism and drug interactions in the elderly. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 15: 897 - 918.
- Hippius M, Humaid B, Sicker T, Hoffmann A, Goettler M and Hasford J (2001) Adverse drug reaction monitoring digitoxin overdose in the elderly. *Int J Clin Pharmacol Ther* 39: 336 - 343.
- Hoc S (1997) Fluorchinolone: Ciprofloxacin bei Harnwegsinfektion. *Dtsch Arztebl* 94(19): A - 1290 / B - 1080 / C - 1007.

- Holstein A, Plaschke A, Ptak M, Egberts M, El-Din EH, Brockmöller J and Kirchheiner J (2005) Association between CYP2C9 slow metabolizer genotypes and severe hypoglycaemia on medication with sulphonylurea hypoglycaemic agents. *Br J Clin Pharmacol* 60(1): 103 - 106.
- Humaid BA (2000) Analyse der Unerwünschten Arzneimittelereignisse unter Berücksichtigung ihrer Vermeidbarkeit, die im Zeitraum vom 01. November 1996 bis zum 31. Oktober 1998 zur stationären Aufnahme in die Klinik für Innere Medizin der FSU Jena führten. Dissertation. Jena.
- Hummer-Pradier E, Hess S, Adham IM, Papke T, Pieske B and Kochen MM (2003) Determination of bleeding risk using genetic markers in patients taking phenprocoumon. *Eur J Clin Pharmacol* 59: 213 - 219.
- Ingelman-Sundberg M, Oscarson M and McLellan RA (1999) Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci* 20: 342 - 349.
- Ingelman-Sundberg M (2001) Implication of polymorphic Cytochrom P450-dependent drug metabolism for drug development. *Drug Metabolism and Disposition* 29 (4): 570 - 573.
- Ingelman-Sundberg M (2005) Genetic polymorphisms of Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics* 5 (1): 6 - 13.
- IDF: Diabetes epidemic out of control. *Diabetes Atlas* 2006.
- Jansen PA. (2003) Clinically relevant drug interactions in the elderly. *Ned Tijdschr Geneesk* 147: 595 - 599.
- Johnsen MD, Newkirk G and White JR (1999) Clinically significant drug interactions. *Postgrad Med* 105: 193 - 222.
- Johnson JA and Burlew BS (1996) Metoprolol metabolism via cytochrome P4502D6 in ethnic populations. *Drug Metab Dispos.* 24: 350 - 355.
- Kirchheiner J, Brosen K, Dahl ML, Gram LF, Kasper S, Roots I, Sjoqvist F, Spina E and Brockmöller J (2001) CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation-specific dosages. *Acta Psychiatr Scand* 104: 173 - 192.

- Kirchheiner J, Bauer S, Meineke I, Rohde W, Prang V, Meisel C, Roots I and Brockmöller J (2002a) Impact of CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms on tolbutamide kinetics and the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Pharmacogenetics* 12: 101 - 109.
- Kirchheiner J, Meineke I, Freytag G, Meisel C, Roots I and Brockmöller J (2002) Enantiospecific effects of Cytochrome P450 2C9 amino acid variants on ibuprofen pharmacokinetics and on the inhibition of cyclooxygenase 1 and 2. *Clin Pharmacol Ther* 72: 62 - 75.
- Kirchheiner J (2003) *Arzneitherapieempfehlungen auf pharmakogenetischer Basis* Habilitationsschrift. Berlin.
- Kirchheiner J and Brockmöller J (2005) Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther*. 77 (1): 1 - 16.
- Kirchheiner J, Roots I, Goldammer M and Brockmöller J (2005) Effect of Genetic Polymorphisms in Cytochrome P450 (CYP) 2C9 and CYP2C8 on the Pharmacokinetics of Oral Antidiabetic Drugs: Clinical Relevance. Auswirkungen der genetischen Polymorphismen in der Cytochrom P450 (CYP) 2C9 und CYP2C8 auf die Pharmakokinetik von oralen Antidiabetika Drogen: Klinische Relevanz. *Clin Pharmacokinet* 44 (12): 1209 - 1225.
- Kuschel UM (2002) *Unerwünschte Arzneimittelereignisse (UAE) von Herz-Kreislaufmedikamenten – Ergebnisse einer multizentrischen Studie.* Dissertation. Jena.
- Lazarou J (1998) Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a metaanalysis of prospective studies. *JAMA* 279: 1200 - 1205.
- Lee CR, Goldstein JA and Pieper JA (2002) Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics* 12(3): 251 - 263.
- Lepori V, Perren A und Marone C (1999) Unerwünschte intermedizinische Arzneimittelwirkungen bei Spitaleintritt. *Schweiz Med Wochenschr* 129: 915 - 922.
- Loebstein R, Yonath H and Peleg D (2001) Interindividual variability in sensitivity to warfarin- nature or nurture? *Clin Pharmacol Ther* 70: 159 - 164.
- Maier K (2004) *Unerwünschte Arzneimittelereignisse bei Patienten mit Diabetes mellitus und eingeschränkter Nierenfunktion.* Dissertation. Jena.

- Malhotra S, Karan RS, Pandhi P and Jain S (2001) Drug related emergencies in the elderly: role of adverse drug reactions and non-compliance. *Postgrad Med J* 77: 703 - 707.
- Mannesse CK, Derkx FH, de Ridder MA, Man in 't Veld AJ and van der Cammen TJ (2000) Contribution of adverse drug reactions to hospital admission of older patients. *Age and Ageing* 29: 35 - 39.
- McDonald HP, Garg AX and Haynes RB (2002) Interventions to enhance patient adherence to medication prescriptions: scientific review. *Jama* 288: 2868 - 2879.
- Meisel P (2002) Arylamine N-acetyltransferases and drug response. *Pharmacogenomics* 3: 349 - 366.
- Miners JO and Birkett DJ (1998) Cytochrome P4502C9 an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol* 45: 525 - 538.
- Miners JO, Rees DL, Valente L, Veronese ME and Birkett DJ (1995) Human hepatic cytochrome P450 2C9 catalyzes the rate-limiting pathway of torasemide metabolism. *J Pharmacol Exp Ther* 272: 1076 - 1081.
- Monane M, Monane S and Semla T (1997) Optimal medication use in elders: Key to successful ageing. *Western J Med* 167: 233 - 237.
- Morin S, Lorient MA, Poirier JM, Tenneze L, Beaune PH, Funck-Brentano C, Jaillon P and Becquemont L (2001) Is diclofenac a valuable CYP2C9 probe in humans? *Eur J Clin Pharmacol* 56(11): 793 - 797.
- Mühlhardt C: *Der Experimentator: Molekularbiologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin (2002).
- Müller-Oerlinghausen B, Lasek R, Düppenbecker H und Munter KH (1999) *Handbuch der unerwünschten Arzneimittelwirkungen*.
- Nelson DR (1999) Cytochrome P450 and the individuality of species. *Arch Biochem Biophys* 369: 1 - 10.
- Niemi M, Leathart JB, Neuvonen M, Backman JT, Daly AK and Neuvonen PJ (2003) Polymorphism in CYP2C8 is associated with reduced plasma concentrations of repaglinide. *Clin Pharmacol Ther* 74(4): 380 - 387.
- Normann C, Hesslinger B, Bauer J, Berger M und Walden J (1998) Die Bedeutung des hepatischen Cytochrom-P450-Systems für die Psychopharmakologie. *Nervennarzt* 69: 944 - 955.
- Paneitz A, Meissner K und Kroemer HK (2000) Arzneimittelinteraktionen: Neue Mechanismen und klinische Relevanz 41: 338 - 343.



- Peyriere H, Cassan S, Floutard E, Riviere S, Blayac JP, Hillaire-Buys D, Le Quellec A and Hansel S (2003) Adverse drug events associated with hospital admission. *An Pharmacother* 37: 5 - 11.
- Pouyanne P, Haramburu F, Imbs JL and Bégaud B (2000) Admissions to hospital caused by adverse drug reactions: Cross sectional incidence study. *French Pharmacovigilance Centres. BMJ* 320: 103 - 106.
- Rau T, Heide R, Bergmann K, Wuttke H, Werner U, Feifel N and Eschenhagen T (2002) Effekt of the CYP2D6 genotype on metoprolol metabolism persists during long-term treatment. *Pharmacogenetics* 12: 465 - 472.
- Rau T, Wohlleben G, Wuttke H, Thuerauf N, Lunkenheimer J, Lanczik M and Eschenhagen T (2004) CYP2D6 genotype: Impact on adverse affects and nonresponding during treatment with antidepressants. A pilot study. *Clin Pharmacol Ther.* 75 (5): 386 - 393.
- Reimann IR, Schmechel H, Zitzmann S, Sotzmann H and Hoffmann A (2001) Serious hypoglycemia as s cause for hospitalization to medical wards. 5<sup>th</sup> Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics, Odense.
- Rettie AE, Koop DR, Haining RL, Levy RH, Thummel KE, Trager WF, Hansten PD and Eichelbaum M (2000) Metabolic drug interactions. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins: 75 - 86.
- Roberts RL, Mulder RT, Joyce PR, Luty SE and Kennedy MA (2004) No evidence of increased adverse drug reactions in cytochrome P450 CYP2D6 poor metabolizers treated with fluoxetine and nortriptyline. *Hum Psychopharmacol Clin Exp.* 19: 17 - 23.
- Ruzicka M and Leenen FH (2001) Monotherapy versus combination therapy as first line treatment of uncomplicated arterial hypertension. *Drugs* 61: 943 - 954.
- Sachse C, Brockmöller J, Bauer S and Roots I (1997) Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: Allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Human Genet.* 60: 284 - 295.
- Schalekamp T, Oosterhof M and van Meegen E (2004) Effects of cytochrome P450 2C9 polymorphisms on phenprocoumon anticoagulation status. *Clin Pharmacol Ther* 5: 409 - 417.

- Schneeweiss S, Hasford J, Göttinger M, Hoffmann A, Riethling AK and Avorn J (2002) Admissions caused by adverse drug events to internal medicine and emergency departments in hospitals: a longitudinal population-based study. *Eur J Clin Pharmacol* 58: 285 - 291.
- Schwab M, Marx C, Zanger UM, Eichelbaum M und Fischer-Bosch M (2002) Pharmakogenetik der Zytochrom-P-450-Enzyme: Bedeutung für Wirkungen und Nebenwirkungen von Medikamenten. *Deutsches Ärzteblatt* 99, Heft 8: A - 497.
- Schweinitz C (2003) Schwerwiegende Unerwünschte Arzneimittelereignisse, die beim Diabetiker zur stationären Aufnahme führen - Ergebnisse einer multizentrischen Studie. Dissertation. Jena.
- Scordo MG, Caputi AP, D'Arrigo C, Fava G and Spina E (2004) Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population. *Pharmacol Res* 50 (2): 195 - 200.
- Sica DA (2004) Hypertension, renal disease and drug considerations. *Clin Hypertens* 6: 24 – 30.
- Smith CA, Gough AC, Leigh PN, Summers BA, Harding AE, Maraganore DM, Sturman SG, Schapira AH, Williams AC, Spurr NK and Wolf CR (1992) Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism and susceptibility to Parkinson's disease. *Lancet* 339: 1375 - 1377.
- Sullivan-Klose TH, Ghanayem BI, Bell DA, Zhang ZY, Kaminsky LS, Shenfield GM, Miners JO, Birkett DJ and Goldstein JA (1996) The Rolle of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics* 6: 431 - 439.
- Takahashi K, Tainaka H, Kobayashi K, Yasumori T, Hosakawa M and Chiba K (2000) CYP2C9 Ile359 and Leu359 variants: enzyme kinetic study with seven substrates. *Pharmacogenetics* 10: 95 - 104.
- Ufer M, Svensson J and Krausz K (2004) Identification of cytochromes P450 2C9 and 3A4 as the major catalysts of phenprocoumon hydroxylation in vitro. *Europ J Clin Pharmacol* 809: 217 - 226.
- Ufer M, Kammmerer B and Kahlich R (2004) Genetic polymorphisms of Cytochrome P450 2C9 causing reduced phenprocoumon (S)-7-hydroxylation in vitro and in vivo. *Xenobiotica* 34: 847 - 859.
- Ufer M (2005) Comparative pharmacokinetics of vitamin k antagonists: warfarin, phenprocoumon and acenocoumarol. *Clin Pharmacokinet* 44: 1227 - 1246.

- Vandel P, Haffen E, Vandel S, Bonin B, Nezelof S, Sechter D, Broly F, Bizouard P and Dalery J (1999) Drug extrapyramidal side effects: CYP2D6 genotypes and phenotypes. *Eur J Clin Pharmacol* 55 (9): 659 - 665.
- Vatsis KP, Weber WW, Bell DA, Dupret JM, Evans DA, Grant DM, Hein DW, Linb HJ, Meyer UA, Relling MV, Sim E, Suzuki T and Tamazoe Y (1995) Nomenclature for N-acetyltransferases. *Pharmacogenetics* 5: 1 - 7.
- Visser L, van Vliet M and van Schaik R (2004) The risk of overanticoagulation in patients with cytochrome P450 CYP2C9\*2 or CYP2C9\*3 alleles on acenocoumarol or phenprocoumon. *Pharmacogenetics* 14: 27 - 33.
- Walter EC (2007) Die Bedeutung genetischer Polymorphismen im Enzym Cytochrom P4502C9 für die Pharmakokinetik des Antikoagulanzen Phenprocoumon. Dissertation. Berlin.
- Weber WW and Hein DW (1985) N-acetylation pharmacogenetics. *Clin Pharmacol* 37: 25 - 79.
- Weber WW (1987) The Acetylator genes and drug response. New York: Oxford Uni Press.
- Wuttke H and Rau T (2002) Increased frequency of cytochrome P450 2D6 poor metabolizers among patients with metoprolol-associated adverse effects. *Clin Pharmacol Ther* 72 (4): 429 - 437.
- Xie HG, Stein CM, Kim RB, Wilkinson GR, Flockhart DA and Wood AJ (1999) Allelic, genotypic and phenotypic distributions of S-mephenytoin-4'-hydroxylase (CYP2C19) in healthy Caucasian populations of European descent throughout the world. *Pharmacogenetics*, 9: 539 - 549.
- Zanger UM, Raimundo S and Eichelbaum M (2004) Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedelbergs Arch Pharmacol* 369 (1): 23 - 37.
- Zitzmann S (2002) Häufigkeit, Schweregrad und Diagnosezeitpunkt von unerwünschten Arzneimittelereignissen in einem klinisch-internistischen Patientengut. Dissertation. Jena.

## 8. Anhang

### 8.1. Erfassungsbogen der Patienten mit Diabetes mellitus

	N	V	
<b>I. Pat. ID</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Einverständnis ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Geburtsdatum	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		Geschlecht männlich <input type="checkbox"/>
Größe	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> cm		weiblich <input type="checkbox"/>
Gewicht	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> kg		

<b>II. Diabetes</b>	Typ I	<input type="checkbox"/>	Pharmakologisch induziert	<input type="checkbox"/>
	Typ II	<input type="checkbox"/>	Sonstige	<input type="checkbox"/>
	Typ III	<input type="checkbox"/>	Nicht bekannt	<input type="checkbox"/>
Pankreas- Diabetes		<input type="checkbox"/>	Gestationsdiabetes	<input type="checkbox"/>

Diabetes mellitus seit ☐☐ ☐☐ ☐☐☐☐  
 Tag Mon. Jahr

### III. UAE bei der Klinikaufnahme:

Ja ☐ Nein ☐

UAE-Bezeichnung:.....  
 UAE-assoziierte Medikation:.....  
 .....  
 Kausalitätsbeurteilung nach Bégau:.....

### IV. AM- Anamnese (inkl. Selbstmedikation) der letzten 12 Monate:

	<i>Medikament /Wirkstoff</i>	<i>Dosisänderung wegen UAE</i>	<i>keine Dosisänderung</i>
<b>1</b>			
<b>2</b>			
<b>3</b>			

### V. Laborbefunde:

<i>Wert, in SI-Einheiten</i>	<i>Aufnahmebefund</i>	<i>ggf. weitere Ergebnisse</i>
HbA1c, %		
BZ nüchtern, mmol/l		
Kreatinin, µmol/l		
Kreatininclearance, mg/l		
Albuminurie, mg/l		
ASAT, µmol/s.l		
ALAT, µmol/s.l		
AP, µmol/s.l		
GGT, µmol/s.l		

## 8.2. Kausalitätsbeurteilung nach Bégaud

Einteilung des UAE nach chronologischen Kriterien							
Verlauf des UAE nach Absetzen des verdächtigen Medikaments	Zeitlicher Zusammenhang von Medikamenteneinnahme und Beginn des UAE						auszu- schließen
	wahrscheinlich			möglich			
	Reaktion bei Reexposition						
	(R +)	(R 0)	(R -)	(R +)	(R 0)	(R -)	
Wahrscheinlich (die Rückbildung des UAE scheint in Verbindung zu stehen mit dem Absetzen des Medikaments)	C 3	C 3	C 1	C 3	C 2	C 1	C 0
Unbestimmt (Rückbildung des UAE eher spontan oder induziert durch eine unspezifische Behandlung oder follow- up ist kurz oder die Folgen des UAE sind irreversibel oder das Medikament wurde nicht abgesetzt)	C 3	C 2	C 1	C 3	C 1	C 1	C 0
Unwahrscheinlich (keine Rückbildung eines reversiblen UAE nach Absetzen oder vollständige Rückbildung ohne Absetzen des Medikaments)	C 1	C 1	C 1	C 1	C 1	C 1	C 0

**Erläuterung:** (R +) positiv (das UAE wiederholt sich)  
 (R 0) keine Reexposition oder mangelnde Information  
 (R -) negativ (das UAE wiederholt sich nicht)  
 C 0 zeitlicher Zusammenhang ist auszuschließen  
 C 1 zeitlicher Zusammenhang ist zweifelhaft  
 C 2 zeitlicher Zusammenhang ist möglich  
 C 3 zeitlicher Zusammenhang ist wahrscheinlich

<i>Einteilung des UAE nach Symptomen</i>						
<i>Alternative Erklärung des UAE</i> (nicht medikamentenbedingt)	<i>Erklärung der Symptomatik durch das Arzneimittel</i>					
	<i>wahrscheinlich</i>			<i>unwahrscheinlich</i>		
	<i>Zuverlässige Labortests</i> (spezifisch für Zusammenhang zwischen Arzneimittel und UAE)					
	<i>(L +)</i>	<i>(L 0)</i>	<i>(L -)</i>	<i>(L +)</i>	<i>(L 0)</i>	<i>(L -)</i>
nicht vorhanden (nach adäquater Suche)	<i>S 3</i>	<i>S 3</i>	<i>S 1</i>	<i>S 3</i>	<i>S 2</i>	<i>S 1</i>
möglich oder vorhanden	<i>S 3</i>	<i>S 2</i>	<i>S 1</i>	<i>S 3</i>	<i>S 1</i>	<i>S 1</i>

**Erläuterung:**

*L +* positiver Labortest  
*L 0* kein Test verfügbar  
*L -* negativer Labortest  
*S 1* Zusammenhang anhand der Symptome zweifelhaft  
*S 2* Zusammenhang anhand der Symptome möglich  
*S 3* Zusammenhang anhand der Symptome wahrscheinlich

<i>Abschließende Beurteilung</i>			
<i>Chronologie</i>	<i>Symptomatologie</i>		
	<i>S 1</i>	<i>S 2</i>	<i>S 3</i>
<i>C 0</i>	<i>I 0</i>	<i>I 0</i>	<i>I 0</i>
<i>C 1</i>	<i>I 1</i>	<i>I 1</i>	<i>I 0</i>
<i>C 2</i>	<i>I 1</i>	<i>I 2</i>	<i>I 3</i>
<i>C 3</i>	<i>I 3</i>	<i>I 3</i>	<i>I 4</i>

**Erläuterung:**

*I 0* kausaler Zusammenhang zwischen Arzneimittel und UAE ist ausgeschlossen  
*I 1* kausaler Zusammenhang zwischen Arzneimittel und UAE ist zweifelhaft  
*I 2* kausaler Zusammenhang zwischen Arzneimittel und UAE ist möglich  
*I 3* kausaler Zusammenhang zwischen Arzneimittel und UAE ist wahrscheinlich  
*I 4* kausaler Zusammenhang zwischen Arzneimittel und UAE ist sehr wahrscheinlich

### 8.3. Auswertungstabelle für die ermittelten NAT2-Genotypen

Fok /282		alleisp. /341		Kpn / 481		Taq / 590		Dde / 803		Bam / 857		wahrscheinlichster Genotyp (weitere siehe Detailliste)	kalibrierte Inzidenz	S = slow R = rapid	= Phänotyp	Relative Wahrscheinlichkeit für Langsam-/ Schnell-azetylierer	
W	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	M				rapid/slow	slow	rapid
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	* 5B/* 6A	11,62%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	* 5A/* 6A	0,71%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	* 5B/* 6C	0,12%	S / S(?)	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	* 5B/* 7B	0,86%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	* 5B/*13	0,78%	S / R(?)	rapid	24,42%	75,58%
1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	* 5A/* 7B	0,05%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	* 5A/*13	0,05%	S / R(?)	rapid	24,00%	76,00%
1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	* 5B/*14G	0,12%	S / S(?)	slow	60,00%	40,00%
1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	* 5C/* 6A	0,74%	S / S	slow	99,93%	0,07%
1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	* 5E/* 7B	0,01%	S(?) / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	* 5D/* 6A	0,09%	S(?) / S	slow	93,93%	6,07%
1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	* 5C/* 6C	0,01%	S / S(?)	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	* 5C/* 7B	0,05%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	* 5C/*13	0,05%	S / R(?)	rapid	24,73%	75,27%
1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	* 5D/* 7B	0,01%	S(?) / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	* 5D/*13	0,01%	S(?) / R(?)	rapid	24,00%	76,00%
1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	* 5C/*14G	0,01%	S / S(?)	slow	60,00%	40,00%
1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	* 5E/* 6C	0,00%	S(?) / S(?)	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	* 5E/* 6A	0,09%	S(?) / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	* 6A/*12C	0,28%	S / R(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	* 6C/*12C	0,00%	S(?) / R(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	* 7B/*12C	0,02%	S / R(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	* 12C/*13	0,02%	R(?) / R(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	* 12C/*14G	0,00%	R(?) / S(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	* 6C/* 7A	0,00%	S(?) / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	* 6A/*12A	0,03%	S / R	rapid	48,24%	51,76%
1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	* 6A/* 7A	0,09%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	* 4/* 6A	6,65%	R / S	rapid	5,01%	94,99%
1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	* 6C/*12A	0,00%	S(?) / R	rapid	75,00%	25,00%
1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	* 7B/*12A	0,00%	S / R	rapid	72,73%	27,27%
1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	* 4/*14G	0,07%	R / S(?)	rapid	4,06%	95,94%
1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	* 4/* 7B	0,49%	R / S	rapid	5,15%	94,85%
1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	* 4/*13	0,44%	R / R(?)	rapid	1,17%	98,83%
1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	* 7A/* 7B	0,01%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	* 12A/*14G	0,00%	R / S(?)	rapid	45,00%	55,00%
1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	* 6B/* 6C	0,01%	S / S(?)	slow	100,00%	0,00%
1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	* 6A/* 6B	0,57%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	* 5B/* 6B	0,82%	S / S	slow	99,64%	0,36%
1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	* 5A/* 6B	0,05%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	* 5B/* 7A	0,12%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	* 4/* 5B	9,57%	R / S	rapid	4,94%	95,06%
1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	* 5A/* 7A	0,01%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	* 4/* 5A	0,59%	R / S	rapid	4,88%	95,12%
1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	* 5B/*12A	0,04%	S / R	rapid	63,96%	36,04%
1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	* 5C/* 6B	0,05%	S / S	slow	99,49%	0,51%
1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	* 5E/* 7A	0,00%	S(?) / S	slow	100,00%	0,00%
1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	* 4/* 5E	0,07%	R / S(?)	rapid	12,03%	87,97%
1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	* 5C/* 7A	0,01%	S / S	slow	100,00%	0,00%
1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	* 4/* 5C	0,61%	R / S	rapid	5,00%	95,00%
1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	* 5D/* 7A	0,00%	S(?) / S	slow	100,00%	0,00%
1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	* 4/* 5D	0,07%	R / S(?)	rapid	4,88%	95,12%
1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	* 5C/*12A	0,00%	S / R	rapid	75,00%	25,00%
1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	* 5E/* 6B	0,01%	S(?) / S	slow	100,00%	0,00%
1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	* 5A/*12C	0,03%	S / R(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	* 5B/*12C	0,41%	S / R(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	* 6B/*12C	0,02%	S / R(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	* 7A/*12C	0,00%	S / R(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	* 4/*12C	0,23%	R / R(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	* 12A/*12C	0,00%	R / R(?)	rapid	0,00%	100,00%
1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	* 6B/*12A	0,00%	S / R	rapid	75,00%	25,00%
1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	* 6B/* 7A	0,01%	S / S	slow	100,00%	0,00%

#### **8.4. Lebenslauf**

Name: Natalia Tschetwertak  
Anschrift: Am Ärzteheim 15, 99438 Bad Berka  
Geburtsdatum: 11. 04. 1972  
Geburtsort: Kirowograd, Ukraine  
Familienstand: verheiratet, 2 Kinder  
Staatsangehörigkeit: deutsch

#### **Schulausbildung:**

09.1979 - 06.1982      Grundschule in Kirowograd ( Ukraine )  
09.1982 - 06.1989      Gymnasium in Nojabrsk ( Russland) Abschluss: Abitur

#### **Studium:**

09.1989 - 07.1996      Humanmedizinisches Studium an der Staatlichen Medizinischen Akademie in Tjumen, Fachrichtung Pädiatrie

#### **Berufliche Praxis:**

08.1996 - 07.1997      Ärztin im Praktikum im zentralen Stadtkrankenhaus, Nojabrsk  
30. 06. 1997      Qualifikationsprüfung in der Fachrichtung Pädiatrie und Erhalten der Approbation  
07.1997 - 05.1999      Ärztin für Kinderheilkunde in der Kinderpoliklinik, Nojabrsk  
06.1999      Umsiedlung in die Bundesrepublik Deutschland  
07.1999 - 12.2000      Erlernen der deutschen Sprache, Teilnahme an verschiedenen Sprachkursen  
01.2001 - 08.2002      Anpassungslehrgang für die Ärzte aus den GUS-Staaten bei der Johanniter Unfallhilfe in Weimar und Hospitationszeit im Sophien- und Hufeland Klinikum, Weimar  
12.2002      Bestehen der Prüfung zur Feststellung der Gleichwertigkeit des ärztlichen Ausbildungsstandes bei der Landesärztekammer Thüringen und Erhalten der deutschen Approbation  
09.2002 - 10.2004      Wissenschaftliche Angestellte FSU Jena / Ärztin im Projekt zur Erfassung von unerwünschten Arzneimittelwirkungen auf internistischen Stationen des Sophien- und Hufeland Klinikums  
ab 11.2004      Ärztin im Kinder- und Jugendgesundheitsdienst, stellvertretende Amtsärztin, Gesundheitsamt Landratsamt Weimarer Land

Bad Berka, den 31. 12. 2008

Natalia Tschetwertak



### **8.5. Danksagung**

Ich möchte mich ganz herzlich für die Überlassung des Themas, die fachlichen Anregungen sowie für die konstruktive Kritik und hilfreichen Ratschläge zu jeder Zeit bei Frau PD Dr. rer. nat. habil. M. Hippius (Arbeitsbereich für Klinische Pharmakologie des Universitätsklinikums Jena) bedanken.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. habil. R. Fünfstück (Chefarzt der Klinik für Innere Medizin I des Sophien- und Hufeland Klinikums Weimar) für die Möglichkeit der Erfassung der Daten auf internistischen Stationen dieses Klinikums.

Ganz herzlich möchte ich Frau S. Kellert (medizinisch technische Assistentin im Arbeitsbereich für Klinische Pharmakologie) für die fachliche Unterstützung und Durchführung der Genotypisierung danken.

Meiner Familie - meiner Tochter Julia, meinem Mann Oleg und meiner Schwiegermutter Olga - möchte ich für die Entlastung im privaten Bereich danken, die mir den nötigen Freiraum während der Anfertigung der Arbeit ermöglicht haben.

#### **8.6.    *Ehrenwörtliche Erklärung***

Hiermit erkläre ich, Natalia Tschetwertak, geboren am 11. 04. 1972 in Kirowograd, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Frau PD Dr. rer. nat. habil. M. Hippus,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die in Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Bad Berka, den 31. 12. 2008

Natalia Tschetwertak